ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE : 1981 N° 28

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITE (SLA) DU PORC

ETUDE SEROLOGIQUE DE LA REGION DR (IA)

THESE

POUR LE DOCTORAT VETERINAIRE
(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en 1981
devant l'Université Paul Sabatier de TOULOUSE

PAR

GARIN Bruno, Thierry, Paul
Né le 11 mars 1956 à Paris (20e)

MEMBRES DU JURY

MM. **DUCOS**
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

BODIN
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

LAUTIE
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Année 1981 N° 28

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITE (SLA) DU PORC ETUDE SEROLOGIQUE DE LA REGION DR (IA)

T H E S E

POUR LE DOCTORAT-VETERINAIRE
(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en 1981 devant
l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

Par

GARIN Bruno, Thierry, Paul
Né le 11 mars 1956 à Paris (20e)

Jury :

MM. DUCOS - Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

BODIN - Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

LAUTIE - Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Ministère de l'Agriculture

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur ..... M. LAUTIE

Directeurs honoraires ..... MM. PONS
FLORIO

Professeurs honoraires ..... MM. BRIZARD
BERTHELON
SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. GOFRAIN
Professeur sans chaire ..... Mme BURGAT-SACAZE

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire ..... MM. RIGO
Professeur sans chaire ..... BRAUN
Maître-Assistant ..... BENARD

Physique biologique et médicale
Chimie Biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire ..... MM. PAVAUX
Maître-Assistant ..... LIGNEREUX
Maître-Assistant ..... SAUTET

Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire ..... MM. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire ..... FARGEAS
Maître-Assistant Agrégé ..... TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie et
Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire ..... MM. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire ..... CABANIE
Maître-Assistant Agrégé ..... MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire ..... MM. LABIE
Maître de Conférences ..... EECKHOUTTE
Maître-Assistant Agrégé ..... Mme BENARD

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie
des Denrées alimentaires d'Origine Animale

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire ..... MM. DORCHIES
Maître de Conférences ..... FRANC
Maître-Assistant ..... DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Pathologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES
EQUIDES ET CARNIVORES

Professeur titulaire ..... MM. LESCURE
Maître de Conférences ..... GUELFI
Maître-Assistant ..... REGNIER

Sémiologie et Pathologie Médicale des
Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie
Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES
ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire ..... MM. TOURNUT
Maître de Conférences ..... BEZILLE
Maître-Assistant ..... JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail
et des Animaux de Basse-Cour - Clinique
Clinique ambulatoire

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire ..... MM. CAZIEUX
Maître-Assistant Agrégé ..... GENEVOIS
Maître-Assistant ..... AUTEFAGE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale
Technique Chirurgicale - Pathologie Chirurgicale
Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire	MM. FERNEY
Professeur sans chaire	ROYAL
Maître-Assistant Agrégé	TAINTURIER

Sémiologie et Propédeutique - Pathologie de la Reproduction - Obstétrique - Clinique

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSE - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire	MM. CHANTAL
Maître de Conférences	GANIERE
Maître-Assistant	PICAVET

Maladies contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire	MM. LAUTIE
Maître-Assistant	PELLERIN

Microbiologie - Immunologie
Pathologie générale

CHAIRE DE ZOOTECHNIE ET ECONOMIE RURALE

Professeur titulaire	MM. QUEINNEC
Professeur sans chaire	DARRE
Maître-Assistant	Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique appliquée -
Hygiène générale - Zootechnie - Elevage
Economie Générale et des Productions Animales

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire	MM. FALIU
Professeur sans chaire	GRIESS

Botanique appliquée et bromatologie
Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs ANGELIER, ARMENGAUD, AUVERGNAT, BLANC, BOURBON, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET, LE BIHAN, MAZENC, RIVES.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émise par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Consei de l'Ecole en date du 13 juin 1924.

A Sylvie,

Sevgi ile.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543924_0009

A mes parents, en témoignage de ma profonde reconnaissance, de ma grande admiration et de toute mon affection.

A Kémal et Jacqueline BASTUJI, en témoignage de ma plus grande amitié.

A ma famille.

A mes amis.

A mes camarades.

A notre jury de thèse :

Monsieur le Professeur DUCOS

de l'Université Paul-Sabatier de Toulouse,
qui nous a fait le grand honneur d'accepter
la présidence de cette thèse.

Hommage respectueux.

Monsieur le Professeur LAUTIE,

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
qui a bien voulu nous apporter son
bienveillant appui pour cette thèse.

Hommage respectueux.

Monsieur le Professeur BODIN,

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
que nous remercions d'avoir bien voulu faire
partie de notre jury de thèse.

En reconnaissance de la bienveillance qu'il
nous a toujours témoignée.

Avec notre plus grande sympathie.

A Monsieur VAIMAN, Docteur Vétérinaire, Docteur ès-Sciences, du Laboratoire de Radiologie Appliquée de Jouy-en-Josas (I.N.R.A.-C.E.A.), qui nous a inspiré ce travail et guidé dans son élaboration.

Avec nos remerciements les plus sincères.

A Madame Christine RENARD, Ingénieur-Chercheur au L.R.A., en témoignage de notre amitié et de notre reconnaissance pour l'aide précieuse qu'elle nous a apportée tout au long de ce travail.

A tout le personnel scientifique, technique et administratif du L.R.A., et notamment aux collaborateurs de Monsieur VAIMAN :

Madame BARDELET
Madame PONCEAU
Monsieur CHARDON
Monsieur LECOINTRE

Nous tenons à remercier vivement le Commissariat à l'Energie Atomique, qui a mis à notre disposition les moyens scientifiques et techniques, ainsi que les conditions matérielles favorables à la réalisation de cette thèse.

*"... Nous nous trouvons à l'aube de l'âge atomique, à peu près dans la situation des premiers hommes qui surent produire le feu..."**

*F. JOLIOT-CURIE***

* Congrès Mondial de la Paix, Paris-Prague 20-25 avril 1949.

** Frédéric JOLIOT-CURIE, grande figure de la science, de la paix et du progrès, fondateur du Commissariat à l'Energie Atomique.

SOMMAIRE

	Pages
Avant-propos	1
Introduction	3
Chapitre I : Organisation immunogénétique du C.M.H. dans les principales espèces animales où il est connu	7
I. Le modèle murin	8
A. Les gènes sérologiquement définis	10
B. Gènes codant pour certains facteurs du complément - La région S	12
C. Les gènes IR	14
D. Les gènes Ia - La région I-associated	16
E. La réponse allogénique - MLR - CML	20
1° Evénements cellulaires de la réponse allogénique : leur déroulement	20
2° Spécificité et contrôle génétique de la réponse allogénique	21
3° Physiologie et mécanisme de la réponse allogénique	23
F. La réponse	24
G. Contrôle du mécanisme de coopération cellulaire par le complexe H-2	24
Résumé et conclusion	27
II. Le complexe HLA de l'homme	30
A. Description du complexe HLA	31
B. Les loci HLA-A, B et C	32
C. Le locus HLA-D	32
a) Contrôle de la réaction lymphocytaire mixte (MLR)	36
b) La série HLA-DR	36
c) Contrôle de la MLR II	38
d) Relations entre déterminants HLA-D (MLR-I), antigènes HLA-DR et structures PL (MLR-II)	40
D. Les autres manifestations contrôlées par le complexe HLA	44
a) Facteurs du complément	44
b) Cytolyse à médiation cellulaire (CML)	44
c) La réaction du greffon contre l'hôte (GvHR)	45
conclusion	45
III. Le C.M.H. dans les autres espèces	46
A. Le C.M.H. du Xénope (Xenopus laevis)	47
B. Le C.M.H. du poulet (complexe B)	49
C. Le C.M.H. H-1 (Ag-B) du rat	52
D. Le C.M.H. GPLA du cobaye	52
E. Le C.M.H. RLA du lapin	54
F. Le C.M.H. DLA du chien	54
G. Le C.M.H. SLA du porc	55

H. Le C.M.H. des primates (autres que l'homme) 57
a) Le complexe RhLA du macaque Rhésus 59
b) Le complexe ChLA du chimpanzé 59
c) L'histocompatibilité chez les autres primates 60
I. Le C.M.H. des ruminants (Ovins, Caprins et Bovins) 60
J. Le C.M.H. (ELA) du cheval 61
conclusion 62

Chapitre II : Matériel d'étude et techniques générales 67

A. Animaux d'expérience 67

B. Echantillons de sang 68

1. Obtention 68
2. Conservation 68

C. Eléments figurés du sang 69

1. Technique de préparation des lymphocytes par sédimentation 69
2. Technique de préparation des plaquettes 71
3. Technique de congélation des lymphocytes 71
4. Décongélation des lymphocytes 74
5. Numération - Viabilité des lymphocytes 74

D. Sérums - Complément 75

1. Préparation du complément 75
2. Obtention - prélèvement - conservation - absorption et élution des sérums 76

E. Le test de lymphocytotoxicité 78

1. Principe du test 78
2. Technique 78

F. Séparation des sous-populations lymphocytaires 81

1. Préparation des lymphocytes adhérant à la laine de nylon 83
2. Préparation des lymphocytes B par les rosettes-mouton 85
3. Préparation des lymphocytes B par la technique des anti-Ig 87

G. Réaction lymphocytaire mixte 88

H. Principe du typage des familles 90

1. Typage sérologique 93
2. Typage en culture mixte 93

Annexe : Milieux utilisés lors de diverses manipulations 103

1. P.B.S. (Phosphate-Buffered-Saline) 103
2. Hanks 103
3. Hanks hypertonique 104
4. Eosine 104
5. Formol 104
6. Ficoll-Triosil 104
7. MEM-HEPES 105

Chapitre III : Etude expérimentale des antigènes Ia du porc par le test de lymphocytotoxicité 107

La région analogue au Ia murin chez le porc 107

A. Bases théoriques de l'expérimentation 109

1. Notion de recombinant 110
2. Les alloimmunisations nécessaires à l'étude de la région D-DR 117
3. Distribution cellulaire des antigènes D-DR 119

B. Résultats obtenus 124

1. Résultats bruts 124
2. Calcul du CHI-2 d'indépendance et du coefficient de corrélation 128

C. Discussion des résultats 132

1. Les clusters 132
2. Comparaison Ia-LD et Ia-SD 139
3. Comparaison des résultats dans les familles et chez les porcs non-apparentés 150

conclusion 152

Conclusion 154

Bibliographie 161

AVANT-PROPOS

Les données exposées ici sont le fruit, tant dans le domaine théorique qu'expérimental, du travail que nous avons réalisé dans le cadre de stages portant sur plusieurs mois, effectués au Laboratoire de Radiobiologie Appliquée* de Jouy-en-Josas (laboratoire coiffé par deux organismes nationaux de recherche, l'Institut National de la Recherche Agronomique et le Commissariat à l'Energie Atomique).

Le thème de recherche primitivement lancé dans ce laboratoire par le C.E.A. était l'étude des syndrômes gastro-entériques et hématologiques, après irradiation à dose létale des animaux supérieurs. Parallèlement, on étudiait les recours thérapeutiques possibles. L'étude des greffes de moelle osseuse, traitement de choix des effets d'une irradiation totale à dose létale s'est rapidement heurtée au problème du rejet du greffon. En outre, le porc, considéré comme biologiquement proche de l'homme, s'est avéré être l'animal de laboratoire de choix pour les investigations sur les problèmes immunologiques liés à ce type d'intervention. Ces deux données expliquent qu'une part importante des recherches poursuivies au L.R.A. s'attachent au domaine de l'histocompatibilité dans l'espèce porcine.

C'est une partie relativement restreinte de ce domaine fort complexe que nous avons explorée et que nous tenterons d'exposer ici.

---

* L.R.A. : I.N.R.A. - C.E.A., C.N.R.Z, Domaine de Vilvert 78350 Jouy-enJosas.

INTRODUCTION

L'histocompatibilité se définit par le degré de similitude des caractères antigéniques portés par les tissus d'un donneur et d'un receveur de greffe.

En effet, la greffe d'un tissu ou d'un organe entre individus de la même espèce (allogreffe, cf. Schéma I) entraîne de façon régulière le rejet du greffon ; depuis les travaux de MEDAWAR et coll. (MEDAWAR et coll., 1974), on sait qu'il s'agit d'un phénomène immunologique ; cette réaction est de force et de rapidité variables, phénomène interprété comme l'expression de degrés variables dans l'histocompatibilité entre le sujet donneur et le sujet receveur.

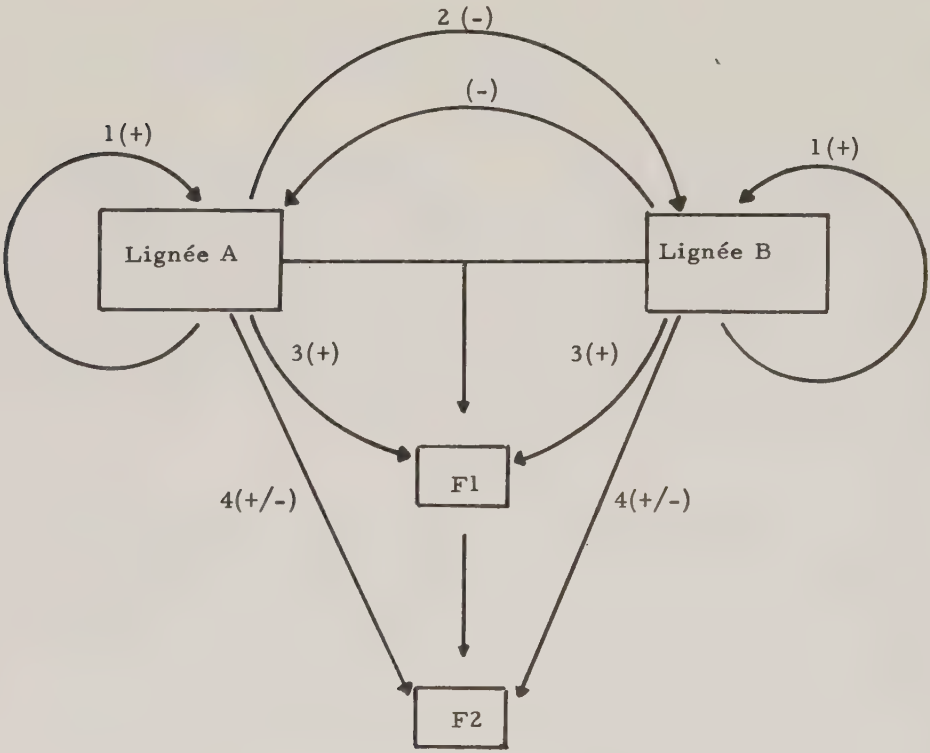
Le rejet d'une greffe est sous la dépendance de multiples systèmes génétiques, probablement plus d'une trentaine ; le système érythrocytaire ABO de l'Homme (groupes sanguins) représente un système d'histocompatibilité important. Parmi tous les autres systèmes génétiques intervenant sur le rejet d'un tissu ou d'un organe, le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (C.M.H.) joue un rôle déterminant, les autres systèmes (dits mineurs) représentant une barrière beaucoup plus faible.

Dans toutes les espèces étudiées jusque-là avec suffisamment d'attention, on retrouve le C.M.H., dont l'incompatibilité entraîne un rejet aigu et violent du greffon.

C'est au sujet du complexe H-2 de la souris qu'ont été proposées les lois de transplantation de SNELL (Schéma I ; SNELL, 1976).

Le Complexe Majeur d'Histocompatibilité est un système génétique complexe. Ensemble de gènes fonctionnellement et topographiquement liés, il est fondamentalement impliqué dans la réponse allogénique, le rejet des greffes, et dans la réponse

SCHEMA I - Représentation des lois de la transplantation:
(D'après SNELL et al. - 1976.)



A, B: lignées consanguines.
+ = greffe acceptée.
- = greffe rejetée.
1 : Isogreffe = greffe effectuée sur un individu génétiquement identique (intra-lignée)
2 : Allogreffe = greffe entre individus différents, mais de la même espèce (inter-lignées)
3 : Greffe parentale sur les hybrides F1.
4 : Greffe parentale sur les hybrides F2, souvent rejetée, rarement accep--tée.

immune en général. Bien étudié chez la souris depuis sa mise en évidence par GORER en 1936, précisée par la suite (1948) par SNELL, qui introduit la notion de complexe majeur H-2, ce système fait l'objet, depuis 35 ans, de recherches permanentes. Outre les propriétés citées plus haut, qui touchent déjà de nombreux domaines de l'immunologie, il est apparu qu'était lié au système H-2 de nombreux autres traits de l'individu, dont certains sont du domaine de l'endocrinologie, de la reproduction, de l'immunopathologie et aussi de l'oncologie.

De très nombreuses espèces font aujourd'hui l'objet d'une étude dans le domaine de l'histocompatibilité (Amphibiens, Oiseaux, Mammifères). Les deux caractéristiques du C.M.H., que l'on retrouve régulièrement dans ces espèces, sont son unicité et son polymorphisme. On notera avec intérêt que le C.M.H. a été identifié chez le Xénope (Xenopus laevis) amphibien anoure primitif, dont l'apparition remonte à quelque 300 millions d'années.

Le travail que nous avons réalisé au L.R.A. portait particulièrement sur l'étude sérologique du C.M.H. SLA du Porc. En fait, nous avons restreint notre travail à l'étude d'une région de ce système, la région DR(Ia). Cette région, encore mal connue chez le porc, a ceci de particulier qu'elle code pour des antigènes dont la distribution dans l'organisme est restreinte à certaines populations de cellules et, au niveau des celulles du sang, essentiellement aux lymphocytes B. Pour que l'importance de cette région soit mieux cernée, il nous est apparu utile de la replacer topographiquement dans le C.M.H., C.M.H. dont nous consacrerons la première partie de cette thèse à une étude topographique et fonctionnelle comparative dans les principales espèces où il est connu. D'autre part, avant d'exposer dans une troisième partie les différents aspects de notre expérimentation proprement dite, nous avons détaillé dans la seconde partie de l'exposé les méthodes, les techniques générales et le matériel d'étude utilisés en immunologie expérimentale dans le domaine de l'histocompati-

bilité, afin de montrer les difficultés de telles recherches, la minutie, la patience et le matériel sophistiqué qu'elles exigent.

Nous terminerons cet exposé, en guise de conclusion, en envisageant de façon succincte les diverses perspectives et l'intérêt qu'offrent de telles recherches.

Chapitre I

ORGANISATION IMMUNOGENETIQUE DU C.M.H. DANS LES PRINCIPALES ESPECES ANIMALES OU IL EST CONNU

Les recherches relatives aux transplantations d'organes et aux greffes tissulaires débutèrent au cours du dix-neuvième siècle. Entreprises dans le but de comprendre la façon dont on pouvait assurer le succès d'une telle opération, elles furent à l'origine du développement d'un nouveau domaine d'investigation : l'histocompatibilité.

Les premières expériences se soldèrent par des échecs, et seules les greffes effectuées d'un individu sur lui-même, ou autogreffes, apparurent réalisables ; ainsi, les autogreffes de peau s'avérèrent rapidement très utiles dans le traitement des plaies et des brûlures. Il fallut attendre la fin du siècle (HANAU, 1889) pour, qu'avec les premiers succès, on assiste à un nouvel essor de ces travaux (LOEB, 1901 ; JENSEN, 1903). Depuis cette époque, un nombre sans cesse croissant de travaux sur les greffes, chez les rongeurs, ont abouti à la démonstration de la nature immunologique du rejet (LOEB, 1945 ; GORER, 1936 ; MEDAWAR, 1945). Ce dernier est, en grande partie, conditionné par un ensemble de gènes étroitement associés en un segment chromosomique jouant vraisemblablement un rôle fondamental dans la vie des espèces humaine et animales.

Dénommé Complexe Majeur d'Histocompatibilité, cette région du génôme est de mieux en mieux caractérisée par ses structures génétiques et par ses fonctions dans divers mécanismes importants de l'immunologie. C'est l'exposé des connaissances actuelles, en la matière, chez l'homme et les animaux, qui fera l'objet de notre première partie.

C'est chez la souris que le plus important effort de recherche a été réalisé, et c'est aujourd'hui l'espèce la mieux connue. C'est pourquoi nous consacrerons notre premier chapitre à l'étude détaillée de ce qu'il est désormais convenu d'appeler : le modèle murin.

Un second chapitre sera consacré à l'exposé des données acquises dans l'espèce humaine, cette place particulière attribuée à l'homme se justifiant par l'importance des découvertes réalisées dans cette espèce et de leurs implications en médecine. Enfin, nous terminerons dans une troisième chapitre par l'étude comparative du C.M.H. dans les principales espèces où il est connu, et notamment chez le porc, espèce d'intérêt zootechnique, qui a fait l'objet de notre expérimentation, et pour laquelle on dispose aujourd'hui d'un ensemble de connaissances satisfaisant.

I. LE MODELE MURIN

Le système H-2 de la souris commensale de l'homme (Mus musculus) a été initialement défini par Peter A. GORER, en 1936, comme un système de groupe érythrocytaire. Un sérum de lapin anti-souris convenablement absorbé agglutinait les hématies des lignées consanguines A et CBA, alors que les hématies d'une autre lignée (Columbia) n'étaient pas agglutinées. L'antigène II ainsi reconnu était contrôlé par un seul gène (ou groupe de gènes) autosomal dominant, situé dans le groupe de linkage IX, et jouait un rôle d'histocompatibilité (GORER, 1948 ; ALLEN, 1955) : la croissance d'une tumeur mammaire de la lignée A dépendait de la présence chez le receveur et la tumeur A de deux gènes dominants, dont l'un contrôlait l'antigène II. De plus, les animaux ayant rejeté la tumeur développaient des allo-anticorps agglutinant les hématies A (Tableau II ; GORER, 1937). A. SNELL ayant proposé que les loci génétiques contrôlant l'évolution des transplants de tissu normal ou tumoral fussent nommés loci d'histocompatibilité, GORER et al. nommèrent leur système Histocompatibility-2 ou H-2. Ce système fut

TABLEAU II - Influence de l'antigène II sur la croissance d'une tumeur mammaire de la lignée A, chez des souris F2 issues de croisement de A avec C57BL, lignée normalement résistante. (D'après GORER-1937.)

Type antigènique de la souris	Résultats de l'inoculation		
	+	-	Total
Présence de l'antigène II	35(36-56)	13(12-19)	48
Absence de l'antigène II	00	17(16-25)	17
	35(36-56)	30(28-44)	65

-Le développement normal de la tumeur est conditionné par la présence de l'antigène II sur les hématies de l'hôte. Les F2 qui n'ont pas cet an--tigène rejettent régulièrement la tumeur et développent subséquemment des anticorps hémagglutinants, dont l'activité est superposable à celle des anticorps anti-II.

-Les chiffres entre-parenthèses représentent les valeurs attendues dans le cas d'un gène dominant.

ultérieurement reconnu comme le système majeur d'histocompatibilité, en ce qu'il induit un rejet rapide des transplants incompatibles et l'apparition d'anticorps humoraux aisément décelables. Notons que de nombreux (30) autres systèmes d'histocomptabilité mineurs existent (COUNCE et al. 1956 ; SNELL, 1966).

Pour faciliter la compréhension de notre exposé, précisons dès à présent que le complexe H-2 peut être divisé en quatre régions : K, I, S, D, qui ont été définies par l'observation progressive de recombinants entre les marqueurs identifiés (cf. Schéma III). Aujourd'hui, plusieurs types de gènes peuvent être localisés dans la même région, mais cela ne signifie nullement qu'ils soient identiques ; il est simplement impossible de connaître plus finement la structure génétique, faute de recombinants. Notons également que le terme *"haplotype"* désigne une combinaison des allèles des divers gènes de la région H-2.

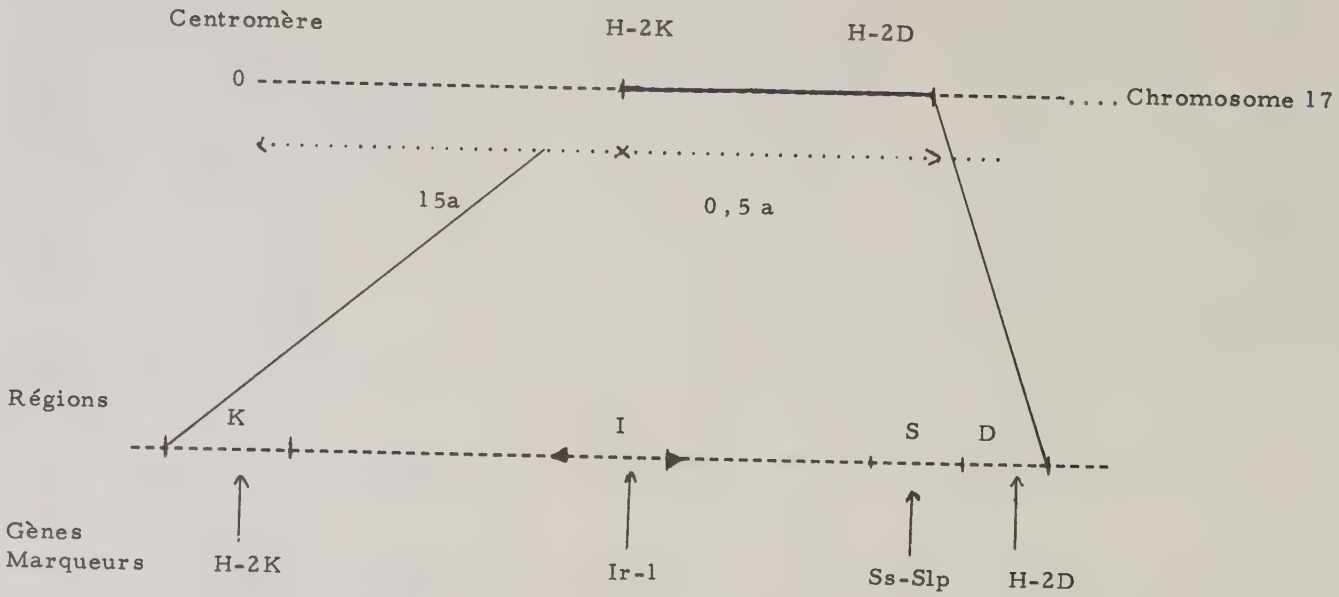
A. Les gènes sérologiquement définis

Ce sont, par définition, les gènes marqueurs des régions K et D, définis par leurs produits au niveau de la membrane cellulaire, et identifiables par les immunsérums obtenus par immunisations entre lignées (COLOMBANI, 1975).

Les antigènes codés par ces gènes sont présents à la surface de toutes les cellules ou presque, et peuvent donc être reconnus par l'utilisation de techniques sérologiques classiques utilisant les propriétés cytotoxiques des anticorps produits par alloimmunisation (pour le détail, cf. Chapitre II, Le test de lymphocytotoxicité). On les appelle fréquemment *Antigènes Classiques"*.

Ce sont les premiers à avoir été découverts. En effet, le système II décrit par GORER en 1936 n'était autre que celui-là. Le développement et la complexité croissante des études sérologiques conduites depuis ont permis de bien connaître ces gènes et leurs produits.

SCHEMA III: Présentation du Complexe Majeur d'Histocompatibilité de la souris (complexe H2)



a: unités de recombinaison.

Le système H-2 classique (constitué par les gènes aux loci H-2K et H-2D) peut être décrit comme composé de deux séries alléliques à deux loci étroitement liés (0,5 % de recombinaison) d'un autosome (le chromosome 17, IXe groupe de linkage).

Chaque allèle à chaque locus détermine la présence au niveau de la membrane cellulaire d'une glucoprotéine de PM = 45 000 porteuse d'une ou deux chaînes polysaccharidiques (PM = 3 000). Des études récentes ont montré que les molécules H-2 sont associées au niveau de la membrane cellulaire à une petite molécule de structure apparentée à celle des immunoglobulines, similaire de la β-2-microglobuline humaine (PM = 12 000). Chaque produit allélique est défini par un ensemble de spécificités sérologiques. L'une est caractéristique de l'allèle considéré ; en principe, produite exclusivement par cet allèle, elle est qualifiée de privée ; d'autres, qui peuvent être communes à plusieurs produits alléliques, sont dites publiques. La répartition des différentes spécificités actuellement connues est donnée au tableau IV (d'après COLOMBANI, 1978 HLA).

B. Gènes codant pour certains facteurs du complément - La région S

Outre les deux loci K et D déterminant les spécificités classiques sérologiquement définies, un certain nombre d'autres loci ont été décrits dans le complexe H-2. Le locus Ss (Serum-serological variant) contrôlant des variations quantitatives d'une β-globuline sérique, fut décrit par SHREFFLER en 1963.

Situé entre K et D, ce locus fut d'abord d'un grand intérêt pour la localisation des recombinaisons survenant entre

---

N.B. : L'existence d'un troisième locus, très voisin de D, le locus L, vient d'être démontré récemment (P. DEMANT et al., 1978).

TABLEAU IV - Tableau simplifié des antigènes H-2K et D:

Haplotype	Extrémité H-2K			Extrémité H-2D				Lignées Représentatives
	Privé	Publics		Publics			Privé	
		Spécifique	Commun	Commun		Spé.		
		45 39 38 25 24 11 8	36 35 28 5 3 1	1 3 5 28 35 36		6 7 44		
b	33	39	36 35 28 5	28		6	2	b B6, B10, C3H. B10
d	31	8	28	3 28 35 36		6 44	4	d BALB/c, D2
f	26	39 8				6 7	9	f A, CA, B10, M
j	15	15 38		5.28		6 7 44	2	j B10. WB
k	23	45 25 24 11 8	5 3 1	1. 3. 5.			32	k C3H, B10. BR, AKR, CBA, D58
p	16	38 24 8		1. 3. 5. 35		6 7		p B10F, B10. P, P/J
q	17	45 11	5	1. 3. ?28		6	30	q D1, C3H. Q, SWR, B10. G
r	(18)	15 25 11 8	5	1. 3. ?		6	(18)	r RIII, B10. RIII
s	19	45	5	1. 3. ?28 36		6 7	12	s A. SW, B10. S, SJL
v	21	??	5	1.3. 28			30.	v SM/J, B10. SM
u	20	??	28 5	3 28 35 36		? ?	4	u(d) PL/J, B10. PL
a(k)	23	45 25 24 11 8	5 3 1	3 28 35 36		6 44	4	a(d) A, B10. A

-Ce tableau montre les antigènes privés et publics déterminés aux extrémités K et D du complexe H-2. Certains antigènes publics sont communs aux deux extrémités, d'autres sont spécifiques de chacune. (.) indique un antigène modifié (réaction croisée), (?) un antigène non déterminé, (??) un résultat douteux. La localisation K ou D de l'an-tigène 18 est incertaine, faute de renseignements suffisants. Les haplotypes mentionnés sont les onze originaux. - u est considéré comme un recombinant possible u/d; a (recombinant k/d) est mentionné à titre d'exemple de re-combinant. D'après COLOMBANI - 1978a.

K et D, celles-ci pouvant se situer à droite ou à gauche de Ss. Ultérieurement, il fut reconnu qu'outre les variations quantitatives, des variations qualitatives de cette protéine dépendait de ce locus ; un locus Slp (Sex-Limited-Protein - cet allotype n'est présent que chez le mâle) indissociable de Ss était alors décrit. Récemment, il a été montré qu'une relation existe entre le type SsSlp des lignées et le taux de complément sérique total et C_3 mesuré par son activité hémolytique (DEMANT et al., 1973 ; CAPCOVA et DEMANT, 1974 ; HANSEN et al. 1975). Un produit de la région S a été identifié au composant C_4 du complément (CURMAN et al., 1975 ; LACHMAN et al. 1975).

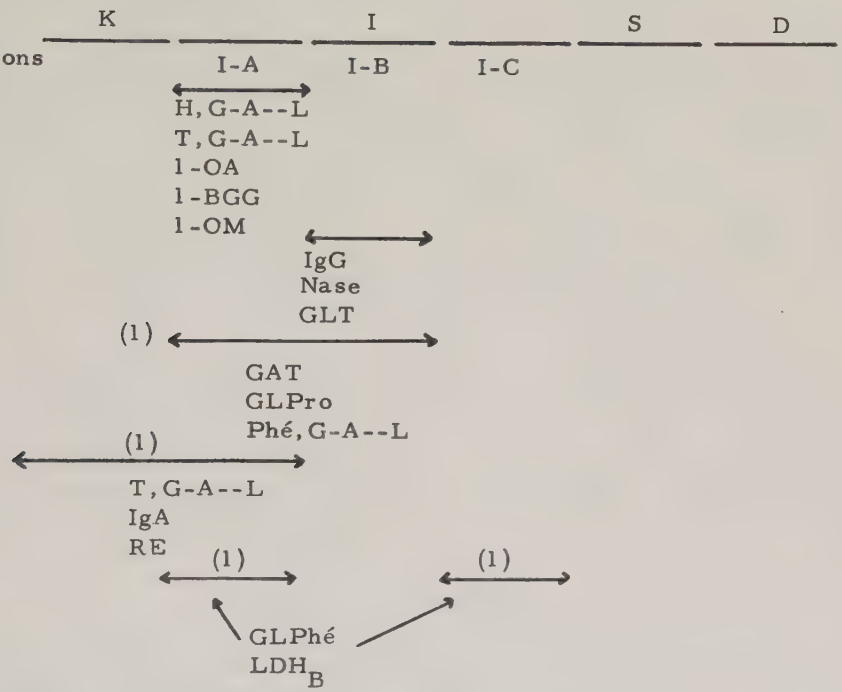
C. Les gènes Ir

Les gènes Ir contrôlent, par définition, l'aptitude à développer une réponse immunitaire (RI) humorale spécifique contre les antigènes T-dépendants. Chez la souris, comme chez le cobaye, le niveau de la RI à certains antigènes définis (particulièrement, des polypeptides synthétiques simples) est fonction de la constitution génétique de l'individu (Mac DEVITT, 1968 ; BENACERRAF, 1972 ; GASSER, 1974). Des expériences classiques de transmission des caractères répondeurs (haut niveau de RI) et non-répondeurs (niveau bas ou nul de RI) ont montré que chaque caractère était transmis comme un seul gène ou groupe de gènes étroitement liés, que le caractère répondeur dominait le caractère non-répondeur, et que ces caractères étaient étroitement liés au complexe H-2.

Grâce à l'emploi de recombinants H-2, la position du locus Ir-1 (premier marqueur de la région I) fut définie dans le complexe H-2 entre les régions K et S (sous-région I-A) (Mac DEVITT, 1972).

L'étude systématique de la RI à de nombreux antigènes a montré qu'un contrôle génétique existait pour plus de 20 d'entre eux (cf. Schéma V) et a permis de définir trois sous-régions de la région I : les sous-régions I-A, I-B, I-C, où sont localisés

SCHEMA V - Carte génétique des gènes Ir situés dans le complexe H-2 de la souris. (D'après BENACERRAF et KATZ- 1975 et DAVID- 1977.)



(1): gènes Ir non encore localisés avec précision.

Légende des antigènes utilisés:

GLPro: Terpolymère de L-acide glutamique L-lysine L-proline;

GLPhé: ..... L-phénol;

GLT : ..... L-tyrosine;

GAT : ..... L-alanine L-tyrosine;

T, G-A--L:polymère à plusieurs chaines branchées de poly L-(tyrosine, acide glutamique)-poly D L-alanine--poly L-lysine.

H, G-A--L:..... -(histidine, ...

Phé, G-A--L:..... -(phé-alanine, ...

IgA(ou G): déterminants allotypiques d'IgA(ou G), myélome de la lignée BALB/c (souris).

RE:extraits de jacobée- Nase:nucléase de staphylocoque-LDH_B:déhydrogénase lactique B de porc - 1-OM, 1-BGG, 1-OA: doses faibles d'ovomucoïde de poulet, de gammaglobuline bovine, et d'ovalbumine.

les gènes Ir.

Soulignons qu'il est prématuré de tenter une analyse rationnelle de ces faits (DEBRE, 1978). En effet, les gènes Ir ne sont définis que par leur expression phénotypique dans la réponse immunitaire humorale ; la nature de leurs produits est actuellement inconnue, leur rôle exact et leur mode d'action encore mal définis. Leur localisation au niveau du complexe H-2, s'il s'agit d'une propriété remarquable, n'a en aucun cas reçu d'explication définitive ; bien sûr, cette situation enrichit considérablement le rôle et l'importance attribuée à la région chromosomique portant le complexe H-2.

De la même manière qu'il existe plusieurs loci d'histocompatibilité, plusieurs loci Ir ont été décrits dans la littérature, soit sur d'autres autosomes, soit sur le chromosome X, et l'on peut supposer que d'autres seront déterminés (SNELL et al. 1976).

D. Les gènes Ia - La région I-associated

L'individualisation d'une région nouvelle dans le complexe H-2 était ainsi réalisée. La manifestation phénotypique de cette région, distincte de K, S et D, était constituée par des variations de RI. Dès lors, la possibilité d'alloimmunisation par des produits hypothétiques de cette région chromosomique, au niveau de la membrane cellulaire pouvait être envisagée. L'existance de recombinants ne différant entre eux qu'au niveau de la région I, permettait de vérifier cette hypothèse. Des anticorps furent, en effet, produits (GOTZE et al. 1973 ; HAUPTFELD et al., 1973 ; SACHS et CONE, 1973 ; HAMMERLING et al., 1974 ; DAVID et SHREFFLER, 1974 a et b ; DAVIES et HESS, 1974) aisément dans ces situations privilégiées (cf. Tableau VI).

L'étude systématique de tels anticorps conduisit à la description d'au moins 23 spécificités dénommées Ia (I Region associated).

TABLEAU VI - Démonstration d'allo-antigènes de la membrane lympho--cytaire contrôlés par la région I du complexe H-2.

(D'après COLOMBANI - 1978a)

Lignée	Haplotype	Composition Haplotypique	Réactivité des sérums	
		K I S D	A.TH anti-A.TL	A.TL anti-A.TH
A.TH	t2	s s s d	-	+
A.TL	t1	s k k d	+	-
	a	k k d d	+	-
	a1	k k k d	+	-
	y1	q k d d	+	-
	b	b b b b	+	-
	q	q q q q	+	-
	s	s s s s	-	+
	sq1	s s q q	-	+

L'immunisation réciproque A.TH ⇌ A.TL produit deux immun--sérums réagissant avec les lymphocytes de l'immuniseur et de certaines autres lignées. La situation d'immunisation exclut l'incompatibilité à d'au--tres régions que H-2 (lignées congéniques) et l'incompatibilité aux loci K et D. L'incompatibilité au locus S étudiée par ailleurs ne produit pas d'im--munisation décelable. L'incompatibilité génératrice des anticorps obser--vés est localisée à la région I. A.TH anti-A.TL(s anti-k) reconnait les produits I^k(Ia 1,2,3,7) dans divers haplotypes, mais aussi les produits I^b et I^q par réactions croisées. A.TL anti-A.TH(k anti-s) reconnait les pro--duits I^s (Ia 4,5,9). Bien que de titres élevés, (10^{-3} à 10^{-4}) ces immun--sérums ne tuent que 40 à 70% des lymphocytes spléniques dans le test LCT (principalement lymphocytes B).

L'étude des recombinants déjàs connus quant à leur composition haplotypique pour les sous-régions I-A et I-B (gènes de RI) a permis la localisation de certains gènes contrôlant la production d'antigènes Ia à ces mêmes sous-régions. Soulignons qu'il n'est pas possible actuellement de savoir si ces gènes et les gènes Ir correspondants sont situés aux mêmes loci, c'est-à-dire en fait s'il s'agit des mêmes gènes ou s'ils sont situés à des loci voisins (Ia représentant l'expression phénotypique des locus Ir).

Le même genre d'étude a conduit à l'individualisation des sous-régions I-C et I-J.

Une caractéristique essentielle des antigènes Ia est leur distribution cellulaire restreinte, contrastant avec la distribution ubiquitaire des antigènes sérologiquement définis. Le tableau VII précise cette distribution. Ainsi, la réaction de LCT* est seulement partiellement positive (40-70 % des lymphocytes spléniques et ganglionnaires sont tués au maximum, même pour des sérums de titre élevé).

L'étude des antigènes Ia de la membrane cellulaire au moyen de l'immunofluorescence a montré leur dépendance des antigènes H-2K et H-2D, ainsi que des immunoglobulines membranaires (UNANUE et al., 1974). Les études immunochimiques par immunoprécipitation indirecte ont confirmé ces faits, et ont démontré que les molécules porteuses des spécificités Ia contrôlées par des sous-régions distinctes étaient également séparables les unes des autres (CULLEN et al., 1974 ; VITTETA et al., 1974), et que les spécificités contrôlées par une même sous-région étaient sur la même molécule (CULLEN et al., 1976).

L'immunoprécipitation indirecte a également permis d'attribuer un PM de 58 000 aux molécules Ia. Celles-ci sont composées de deux chaînes polypeptidiques (PM = 33 000 et 25 000). Le type de liaison des deux chaînes est encore incertain. Il est possible que seule l'une des deux chaînes soit porteuse des déter-

---

* LCT : lymphocytotoxicité (cf. Chapitre II).

TABLEAU VII - Distribution tissulaire des antigènes Ia.
(D'après COLOMBANI - 1975.)

Fortement représentés (majorité de la population et forte densité par cellule) : Lymphocytes B d'origine splénique ou ganglionnaire.+

Moyennement représentés (fraction de la population cellulaire et/ou densité variable ou faible par cellule) : Lymphocytes T d'origine splénique, ganglionnaire ou thymique+ (thymocytes mûrs, résistants à la cortisone), Macrophages, Spermatozoïdes, cellules épithéliales.

"Absents" (non détectés par absorption et/ou test direct): Erythrocytes, Thrombocytes, Fibroblastes, Tissu hépatique, rénal, et cérébral.

+= il est possible que certains antigènes soient spécifiques de certains types cellulaires.

minants antigéniques et soit codée à la région I (CULLEN et al., 1976). Les molécules Ia sont des glycoprotéines qui, comme les molécules H-2K et H-2D doivent très probablement leur spécificité allotypique à leur portion protéique (CULLEN et al., 1974). Des molécules de faible PM (environ 5 000 - 10 000) porteuses de spécificité Ia ont été décrites dans le sérum (CULLEN et al., 1975). Ces molécules seraient originaires des lymphocytes T, et la spécificité antigénique serait portée par les sucres. La relation entre ces molécules et celles décelées à la membrane des lymphocytes B est inconnue (Mc KENZIE et al., 1977).

E. La réponse allogénique - MLR - CML

Les groupes de gènes que nous avons étudiés jusqu'à présent contrôlent des mécanismes de la réponse humorale (Ir, Ss-Slp), ou du moins ont été détectés à l'aide de techniques sérologiques (SD, Ia). Or, il convient de souligner la remarquable propriété qu'à le complexe H-2 de comporter d'autres gènes, contrôlant des mécanismes de la réponse allogénique à médiation cellulaire, que nous allons maintenant considérer.

FRADELIZI (1978) définit la réponse allogénique comme la réponse de type immunitaire des lymphocytes d'un individu confrontés avec les lymphocytes d'un autre individu génétiquement différent.

1°) Evénements cellulaires de la réponse allogénique : leur déroulement

a) Culture mixte lymphocitaire = MLR

Lorsque deux populations lymphocytaires provenant de deux donneurs différents sont cultivés ensemble, chacune d'elles va développer une réponse allogénique contre l'autre (BAIN et al., 1964 ; BACH et HIRSCHORN, 1964), caractérisée au début par une prolifération lymphocytaire. C'est ce phénomène qui est actuellement étudié sous le terme de culture mixte lymphocytaire, notée MLR (Mixed Lymphocyte Reaction), ou RLM (Réaction lympho-

cytaire mixte).

b) Cytotoxicité à médiation cellulaire = CML

Tandis que les lymphocytes répondeurs prolifèrent, il apparaît dans la culture des lymphocytes cytotoxiques, considérés comme les cellules effectrices de la réponse allogénique, et capables de détruire par interaction cellulaire directe des lymphocytes cibles, provenant du donneur des cellules stimulantes. Ce phénomène est connu sous le terme de cytotoxicité à médiation cellulaire (SOLLYDAY et BACH, 1970). Le schéma VIII montre ces deux types de réactions (MLR et CML) et leurs interrelations.

c) Apparition de cellules mémoires

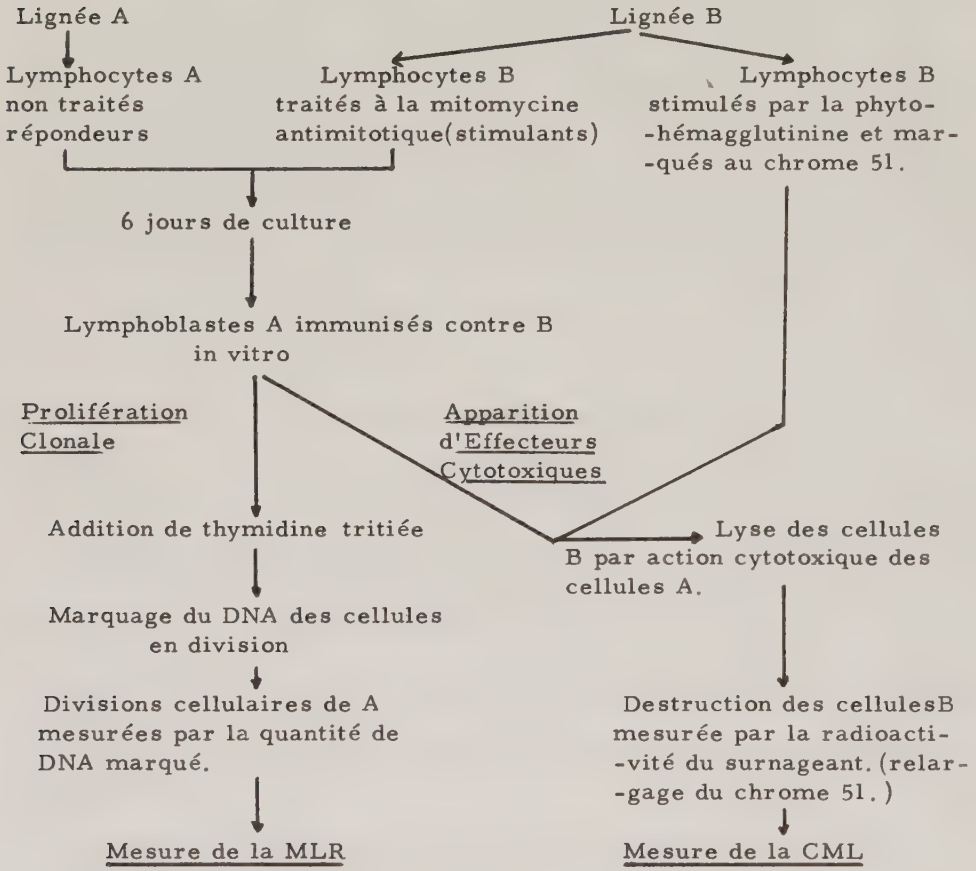
Après la prolifération de la MLR, les cellules sensibilisées ont acquis une mémoire de la cellule stimulante. Un second contact avec les lymphocytes stimulants déclenche une réaction anamnestique proliférative, dénommée par analogie MLR IIaire (FRADELIZI et DAUSSET, 1975), au cours de laquelle on observe la réapparition d'effecteurs hautement cytotoxiques, phénomène alors désigné par CML II aire (CHARMOT et al., 1975).

2°) Spécificité et contrôle génétique de la réponse allogénique

a) MLR

Les loci contrôlant la MLR sont généralement désignés comme "lymphocyte defined" (LD ou D), ou plus récemment comme "lymphocyte activating determinant" (LAD), ceci par opposition aux séries sérologiquement définies. Les déterminants LD ont été localisés dans la région I (BACH et al., 1972 ; MEO et al., 1973a), un rôle primordial ayant été accordé aux gènes des sous-régions I-A et I-B, mais des déterminants "faibles" seraient contrôlés par la sous-région I-C et les régions H-2K et H-2D (ABBASI et al., 1973 ; DEMANT, 1973 ; MEO et al., 1973b).

SCHEMA VIII - Réaction lymhpocytaire mixte - Cytolyse à médiation cellulaire - Relations.



b) CML

ALTER et al. (1973), confirmés par NABHOLZ et al. (1974), ont montré que, si la stimulation et la proligération des cellules répondantes a lieu lors d'une incompatibilité LD, il ne peut y avoir lymphocytotoxicité que lorsque les cellules cibles sont différentes des cellules tueuses aux loci SD, qu'il s'agisse des cellules stimulantes ou d'autres cellules. La spécificité de la CML est dirigée contre les spécificités H-2K et H-2D (BRONDZ et al., 1975 ; FORMAN et MOLLER, 1974).

3°) Physiologie et mécanisme de la réponse allogénique

a) La stimulation

Il serait intéressant de savoir quel est le rôle respectif des lymphocytes T et B dans la stimulation, puisque l'on a vu que les déterminants LD étaient codés dans la région I, qui code également pour les antigènes Ia spécifiques de certaines cellules, notamment les cellules B.

Il apparaît, aujourd'hui, que les lymphocytes B sont fortement stimulants (LHORMANN et al., 1974 ; PLATE ET Mc KENZIE, 1973) et que certaines préparations cellulaires de peau et d'endothélium vasculaire peuvent également déclencher une MLR (LANE et LING, 1973 ; VETTO et BURGER, 1972) ; la capacité stimulante des lymphocytes T est par contre discutée (SONDEL et al., 1975 ; HAN et DADEY, 1976).

Certains auteurs observent une corrélation entre la présence de spécificités Ia et la stimulation en MLR (LOZNER et al., 1974), le fait le plus convaincant concernant le rôle éventuel des antigènes Ia dans la MLR étant qu'un sérum anti-Ia, spécifique des cellules stimulantes, bloque la réaction de MLR (SANDERSON et DAVIES, 1974 ; MEO et al., 1975b).

b) La réponse

Les cellules qui prolifèrent en réponse à une incompatibilité LD, et les effecteurs cytotoxiques dirigés contre les antigènes SD de la cellule stimulante, appartiennent tous deux à deux sous-classes distinctes de lymphocytes T (DYMINSKI et SMITH, 1975 ; PLATE et Mc KENZIE, 1973).

En conclusion, on peut envisager la réponse allogénique comme le développement d'une série de réactions séquentielles, débutant par la reconnaissance du non-soi, et aboutissant à la formation de cellules immunologiquement réactives, capables de détruire des cellules cibles représentées par la population stimulante, et accompagnée d'une mémoire immunologique.

F. La réaction du greffon contre l'hôte (GVHR)

1. Définition

Considérée comme l'équivalent de la réponse allogénique in vivo, la réaction du greffon contre l'hôte (notée GVHR ou graft versus host reaction) est déclenchée lors d'une greffe de cellules immunocompétentes allogéniques, et se traduit chez le receveur par une splénomégalie et une adénomégalie périphérique, et peut entraîner la mort si on ne la contrôle pas.

2. Déterminisme génétique

Chez la souris, la GVHR et la MLR semblent gouvernées par les mêmes déterminants (OPPLTOVA et DEMANT, 1973 ; KLEIN et PARK, 1973), ces deux réactions détectant donc les mêmes facteurs.

G. Contrôle du mécanisme de coopération cellulaire par le complexe H-2

Particulièrement importante est l'intervention du complexe H-2 dans le contrôle de la coopération des lymphocytes T et B et des macrophages lors de la RI. La production d'anticorps par

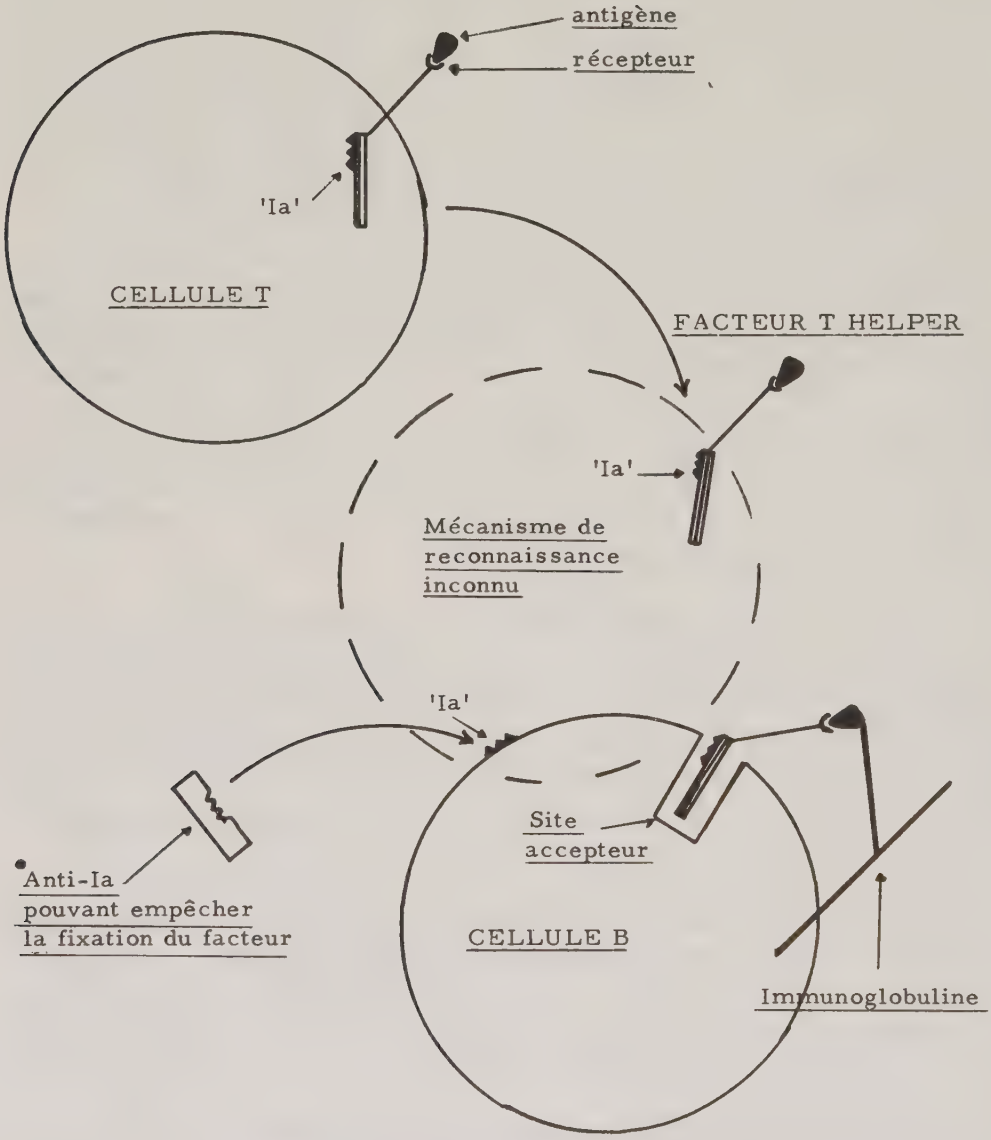
les lymphocytes B nécessite dans la majorité des cas l'intervention de lymphocytes T à un stade initial de reconnaissance de la molécule porteuse (carrier) du déterminant antigénique (haptène). Dans un système expérimental apportant des lymphocytes T et B de diverses sources, il a été montré que la coopération T-B n'était possible que si les populations cellulaires étaient porteuses du même complexe H-2. Un système où l'une quelconque des populations est homozygote (x/x) et l'autre hétérozygote (x/y) permet également la coopération. Lorsque les deux populations ne sont pas porteuses du même complexe H-2, la coopération ne se fait pas. L'étude de lignées porteuses d'haplotypes recombinants montre que l'identité à la région I est suffisante. Initialement démontrée pour la coopération T-B, (KATZ et al., 1973), cette restriction allogénique est également observée pour la coopération T-T et macrophages-T. Cette observation semble impliquer le complexe H-2 dans un processus fondamental de la RI, probablement par l'intermédiaire d'un mécanisme de reconnaissance cellulaire (ROSENTHAL et SHEVACH, 1973 ; ERB et FELDMANN, 1975).

La première application de ce phénomène concerne la susceptibilité de la souris au virus leucémogène de GROSS. Les lignées de souris possédant le complexe H-2k sont susceptibles, mais dans les autres lignées la résistance est dominante. Il a pu être démontré que cette résistance était sous la dépendance d'un gène (Rgv-1) de la région I du complexe. Il s'agit probablement d'un gène de réponse Ir (DAUSSET , 1976).

On a d'autre part remarqué la présence de déterminants Ia sur les facteurs Helper (TAUSSIG et MUNRO, 1975) et sur les facteurs suppressifs (TADA et al., 1976 ; TANIGUCHI et al., 1976) deux facteurs produits par les lymphocytes T et intervenant dans la coopération cellulaire.

Le schéma IX de TAUSSIG et MUNRO (1975) montre la coopération au cours de la réponse immunitaire humorale.

SCHEMA IX - Coopération au cours de la réponse immunitaire humorale.
(D'après TAUSSIG et MUNRO - 1975.)



-Le facteur helper porte des déterminants Ia; ils sont également exprimés par les cellules B; un anticorps empêche la fixation du facteur; la nature exacte des sites accepteurs est inconnue.

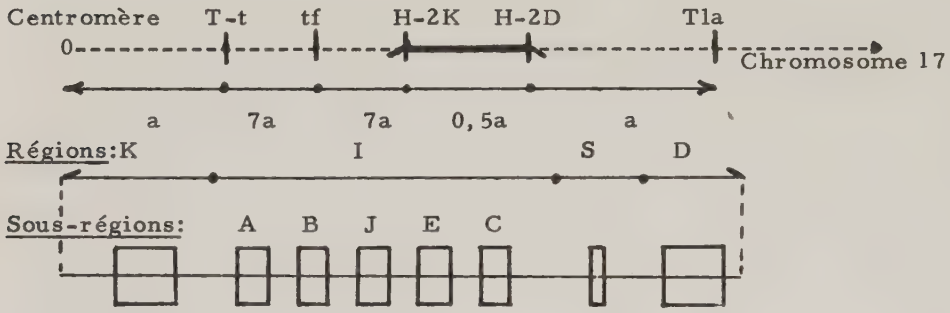
Résumé et conclusion (cf. Schéma X)

Le chromosome n° 17 de la souris est porteur d'une région chromosomique restreinte (0,5 unités de recombinaisons), le complexe H-2 divisé en 4 régions principales, K, I, S, D. Chaque région K et D a pour marqueur un gène correspondant à une longue série polyallélique génératrice d'un polymorphisme considérable. Le produit de ces gènes est une glycoprotéine (PM = 45 000) de la membrane cellulaire, porteuse d'un ou plusieurs déterminants antigéniques, de nature protéique, reconnus par des alloantisérums. Certains de ces déterminants sont spécifiques de l'individu (privés), d'autres communs à plusieurs individus (publics). Les gènes K et D sont probablement les produits d'une duplication d'un gène ancestral comme l'indique l'existence de communautés antigéniques entre les produits de ces deux gènes. Ces mêmes antigènes K et D, présents sur la membrane de pratiquement toutes les cellules de l'organisme, sont très probablement aussi les antigènes induisant la réponse immunitaire de greffe responsable du rejet des transplants allogéniques.

La région I contrôle le niveau de la réponse immunitaire humorale à des antigènes définis, et la production d'antigènes de la membrane lymphocytaire. Ces antigènes déterminés à 4 ou 5 loci distincts de la région I (I-A, I-B, I-J, I-E, I-C) sont portés par une ou deux molécules glucoprotéiques (PM = 25 000 et 33 000). Ils sont principalement représentés au niveau des lymphocytes B et des macrophages et à un moindre degré au niveau de certains lymphocytes T, des spermatozoïdes et des cellules épidermiques. Ils sont absents de la plupart des autres tissus. Avec 23 spécificités actuellement décrites et de nombreuses autres en cours de description, ils représentent un polymorphisme comparable à celui réalisé par les antigènes K et D.

Le complexe H-2 présente de nombreuses autres manifestations phénotypiques parmi lesquelles la réaction lymphocytaire mixte, la réaction du greffon contre l'hôte, le contrôle de la coopération des lymphocytes T et B dans la réponse immunitaire.

SCHEMA X - Carte chromosomique du C. M. H. (H-2) de la souris.



Groupes de gènes:

Localisation:

SD

LD

Ia

Ir
Is

Coop.
Cell.

Ss,
Slp=C4

Localisation et fonction des différents groupes de gènes :

Légende :

-SD: serologically defined
-Ia : I-associated
-Coop. Cell. :coopération cellulaire.
-Tla: code pour un antigène du thymus
-LD:lympho-defined
-Ir(s): Immune response(suppres-
-a:unités de recombinaison. -sion)
-b:en pointillés, fonction faible.
-T-t: contrôle la longueur de la queue chez les hétérozygotes.
-tf: détermine une caractéristique du pelage.

Fonctions:

..... Codent pour les antigènes de membrane (glycoprotéines) à répartition ubiquitaire; détectés par le test de lymphocyto--toxicité.
Codent pour les cibles de la cytolyse à médiation cellulaire.

..... Déterminent la réaction lymphocytaire mixte . (MLR)
Déclenchent la réaction du greffon contre l'hôte. (GvHR)

..... Codent pour les antigènes de membrane (glycoprotéines) de certaines cellules (lymphocytes B, cellules épithéliales, . . .); détectés par le test de lymphocytotoxicité.

..... Contrôlent l'existence (Ir) ou la suppression (Is) de la ré--ponse humorale à certains antigènes.

..... Codent pour des facteurs solubles intervenant dans la coo--pération cellulaire au cours de la réponse immunitaire.

..... Codent pour des facteurs du complément.

Le complexe H-2 est l'une des régions chromosomiques les mieux connues des mammifères, cependant son rôle biologique reste inconnu. Il est certainement important, comme en témoigne la persistance de cette région complexe et de son polymorphisme au cours d'une longue période évolutive. Il est probablement en rapport avec les phénomènes de reconnaissance cellulaire et de réponse immunitaire.

II. LE COMPLEXE HLA DE L'HOMME

Les premiers travaux réalisés dans l'espèce humaine n'ont pas été une transposition de ceux effectués chez la souris ; l'homme ne semblait pas présenter d'antigène d'histocompatibilité sur les érythrocytes détectables par hémagglutination comme chez la souris, et les résultats de AMOS (1953) prouvant que des antigènes H-2 pouvaient être exprimés par les lymphocytes ont dirigé des investigations vers cet autres type cellulaire. De 1920 à 1950, l'existence de substances leucolytiques dans le sang des malades leucopéniques n'a pas pu être démontrée. C'est en travaillant dans cette voie que DAUSSET et NENNA (1952), et indépendamment MOESCHLIN et WAGNER (1952) ont décrit les premières réactions de leucoagglutination, d'origine immunologique, marquant ainsi le début des études sérologiques d'histocompatibilité chez l'homme.

Les années suivantes, l'étude systématique des anticorps développés après transfusion, en utilisant la technique de leucoagglutination, a amené à la définition d'une première spécificité leucocytaire : MAC (DAUSSET, 1958). Cette même année, deux équipes ont découvert indépendamment la grande fréquence d'anticorps anti-leucocytes dans le sérum de femmes multipares (VAN OOD et al., 1958 ; PAYNE ET ROLFS, 1958).

L'analyse des résultats sérologiques apparaissait cependant inextricable, ce qui laissait présager une grande complexité immunogénétique. L'introduction de l'ordinateur dans ces études a permis de poursuivre la description des spécificités : VAN ROOD et VAN LEUWEN (1963) ont découvert ainsi les spécificités 4a et

4b, et PAYNE et al. (1964) ont trouvé les spécificités LA1 et LA2, identiques à MAC et ségrègeant comme allèles dans les études de familles.

A partir de cette date, les progrès très rapides de l'étude du complexe HLA sont à attribuer à une intense collaboration internationale. Dès 1970, le système HLA est apparu comme un système unique, formé de loci polyalléliques étroitement liés, les spécificités sérologiques étant contrôlées par deux loci. Cependant, la possibilité de l'existence d'un troisième locus sérologiquement défini a été évoquée : SANDBERG et al., 1970 ; KISSMEYER-NIELSEN et al., 1971).

Depuis, la connaissance du complexe HLA s'est développée, et la similitude existant avec les résultats obtenus chez la souris est importante.

Les déterminants SD et LD ont été mis en évidence, la liaison avec des facteurs du complément a été établie, des antigènes Ia équivalents ont été identifiés. Cependant, compte tenu de particularités biologiques (impossibilité d'avoir des individus homozygotes), on n'a pas pu pour l'instant retrouver de gènes Ir, ces particularités offrant par ailleurs d'immenses possibilités en génétique des populations, domaine dans lequel les résultats sont déjà abondants.

A. Description du complexe HLA

Le complexe majeur d'histocompatibilité de l'homme, dont l'étude a commencé par les loci HLA-B (loci SD), a été situé sur le chromosome 6, soit par hybridation cellulaire somatique (JONGSMA et al., 1974), soit par étude familiale (LAMM et al., 1974) ; des résultats récents (FRANCKE et al., 1977) situent les gènes HLA sur le petit bras du chromosome 6, submétacentrique, à 17 centimorgans du centromère (OTT et al., 1976).

La carte de cette portion de chromosome a pu être établie et figure au schéma XI. Le complexe HLA comprend une série de loci ; trois définissent la série (HLA-A, B et C) (antigènes classiques), les autres codent pour les antigènes D et DR (MLR et Ia-équivalents).

L'ensemble des autres loci portés par cette portion du génôme, et liés à HLA, figurent au tableau XII.

B. Les loci HLA-A, B et C

Correspondant aux loci H2-K et H2-D de la souris, ils ont été décrits les premiers à partir des études sérologiques. L'ensemble de ces études menées depuis 20 ans a conduit à la définition de 3 séries alléliques, chacune étant contrôlée par un des loci HLA-A, B et C. Les fréquences des divers allèles identifiés, dans la population caucasoïde, sont fournies au tableau XIII, qui utilise la nomenclature officielle.

Si le caractère allélique des différentes spécificités ne fait plus aucun doute, il faut, néanmoins, souligner le côté arbitraire de cette classification ; l'existence de spécificités publiques fait que la tendance est de subdiviser les spécificités existantes ; il est certain qu'aujourd'hui le processus de subdivision n'est pas achevé. D'autre part, il reste des spécificités inconnues ; les "blancs" correspondent vraisemblablement à des spécificités plus rares qui seront découvertes.

Les antigènes HLA-A, B et C sont des glycoprotéines de surface membranaire ; leur distribution est ubiquitaire (cellules nucléées seulement). On retrouve donc les résultats déjà connus pour la souris, la structure de la molécule est identique, la séquence des chaînes protéiques analogue (SILVER et al., 1976).

C. Le locus HLA-D

La région chromosomique environnant le locus HLA-D est certainement celle qui suscite actuellement le plus d'investiga-

SCHEMA XI - Carte provisoire du chromosome 6 ; localisation du Com-plexe HLA et des gènes liés; (D'après FELLOUS, 1978.)

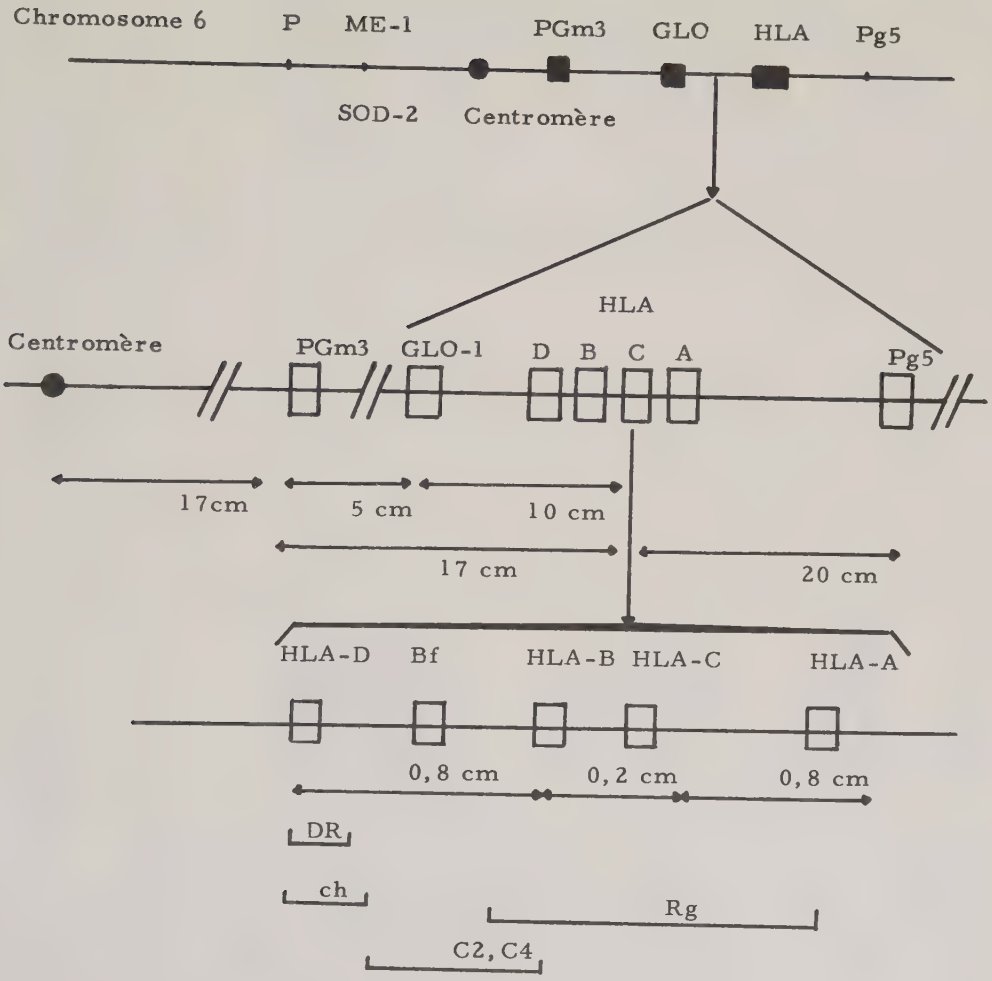


TABLEAU XII - Les différents loci liés génétiquement au complexe HLA ; D'après FELLOUS, 1978.

LOCUS	SYMBOLE	Liaison par famille (F) ou Hybridation somatique (S)	Provisoire(P)	Références
Groupe Chido	Ch	F		Middleton, et al., 1974.
Groupe P	P	S et F	P	Fellous et al., 1971.
Groupe Rodgers	Rg	F	P	Longster, Gilles, 1976.
Pepsinogène urinaire 5	Pg5	F		Weitkamp et al., 1975.
Phosphoglutomutase 3	Pgm3	F et S		Lamm et al., 1971.
Enzyme malique cytoplasmique	ME1	S		Ruddle, 1973.
Superoxyde dismutase	SOD2	S		VonSomeren et al., 1974
Indophenaloxydase B ou	IPo-B			
Glyoxolase	GLo	S et F	P	Weitkamp, 1976.
Déficit en activité C2	C2	F		Fu et al., 1974.
Allotypie de C2		F		Alper, 1976.
Déficit en activité C4	C4	F	P	Rittner et al., 1975.
Allotypie en C4		F		Teisberg et al., 1976.
Properdin facteur B	Bf ou GBG	F		Allen, 1974.
Récepteur du composé C3b	rC3b			
C3d	rC3d	S	P	Curry et al., 1976.
Récepteur globule du singe	rMRBC	S	P	Pellegrino et al., 1975.
Récepteur marmoset	rMARBC	S	P	Fellous et al., 1977.
Virus type C de babouin	Bevi	S	P	Lemons et al., 1977.

N. B. : Le détail des références est donné dans l'ouvrage de FELLOUS, 1978.

TABLEAU XIII - Fréquences géniques des séries HLA-A, B, et C, dans la population caucasoïde - D'après DAUSSET, 1978.

HLA-B		HLA-C		HLA-A	
Antigène	Fréquence Génique	Antigène	F. G.	Antigène	F. G.
BW4	44,1	Cw1	5,0	A1	13,4
BW6	56,3	Cw2	8,0	A2	25,7
B5 Bw51(w4)	7,4	Cw3	14,6	A3	12,0
B5 Bw52(w4)	0,5 (7,9)	Cw4	11,1	A9 Aw23	2,2
B7 (w6)	9,5	Cw5	7,4	A9 Aw24	9,5
B8 (w6)	8,7	Cw6	6,9	A10 A25	1,9
B12 Bw44(w4)	6,5	Blanc	47,0	A10 A26	4,2
B12 Bw45(w6)	11,3 (17,8)			A11	6,0
B13 (w4)	2,7			A28	5,0
B14 (w6)	4,5			A29	5,3
B15	6,3			Aw30	1,2
Bw16 Bw38(w4)	1,2			Aw31	3,5
Bw16 Bw39(w6)	0,4 (1,6)			Aw32	5,0
B17 (w4)	3,0			Aw33	0,9
B18 (w6)	5,8			Blanc	4,9
Bw21 Bw49(w4)	1,8				
Bw21 Bw50(w6)	0,6 (2,4)				
Bw22	3,7				
B27 (w6)	4,0				
Bw35(w6)	7,9				
B37 (w6)	1,4				
B40 (w6)	7,1				
Bw41(w6)	2,4				
Bw47(w4)	0,05				
Bw53(w4)	0,1				
Blanc	4,5				

Antigènes de découverte plus récente (1)

Bw42, Bw46, Bw48,	Cw7	Aw19
Bw54(w22), Bw55(w22)	Cw8	Aw34
Bw56(w22), Bw57(17)		Aw36
Bw58(17), Bw59, Bw60(40)		Aw43
Bw61(40), Bw62(15)		
Bw63(15).		

- (1) : Mise à jour fin 1980; leur fréquence est en cours de détermination.

tions, compte tenu des nombreuses fonctions qui lui sont attribuées.

a) Contrôle de la réaction lymphocytaire mixte (MLR)

Déterminisme génétique

Le contrôle génétique de la MLR, d'abord attribué sans précision au déterminant HLA-B ou à un gène étroitement lié, par de nombreux auteurs (DUPONT et al., 1971 ; LEBRUN et al., 1971 ; GATTI et al., 1971 ; EIJSVOOGEL et al., 1972 ; YUNIS et AMOS, 1971), a été définitivement attribué au locus HLA-D, ainsi défini, placé à l'extérieur du segment HLA-A/HLA-B, à 1 % de recombinaison du côté de HLA-B (EIJSVOOGEL et al., 1972 ; MEMPEL et al., 1972 ; SASPORTES et al., 1972). Comme chez la souris, l'existence de loci "mineurs" a été postulée (SASPORTES et al., 1973 ; THORSBY et al., 1973), mais ils demeurent difficiles à localiser au niveau du complexe HLA, et sont encore l'objet de controverses.

Caractérisation des spécificités HLA-D

Elle a été réalisée grâce à un travail international, qui a consisté en l'échange de cellules homozygotes (indispensables au typage HLA-D). 6 spécificités ont été définies. Leurs fréquences antigéniques et géniques figurent au tableau XIV ; l'analyse génétique a révélé qu'elles sont contrôlées par des allèles codominants d'un locus unique.

b) La série HLA-DR

Définie officiellement en 1977, cette série allélique correspond aux antigènes humains équivalents des Ia murins, DR signifiant "D-related" ; 7 spécificités ont été reconnues. Actuellement, le problème de la monospécificité des sérums anti-DR n'est pas résolu. De nombreux sérums sont polyspécifiques ; une étape ultérieure sera donc l'absorption sur lymphocytes pour démontrer ou obtenir la monospécificité. Un effort dans ce sens a déjà été fait avec l'emploi de l'élution, qui sélectionne un nombre limité d'anticorps à partir d'un immum-sérum polyspéci-

TABLEAU XIV - Fréquences des spécificités HLA-D dans la popula--tion caucasoïde - D'après SASPORTES, 1978.

Spécificités HLA-D	Fréquence antigènique	Fréquence génique
Dw1	19,3	0,102
Dw2	15,2	0,078
Dw3	16,4	0,085
Dw4	15,6	0,075
Dw5	14,6	0,054
Dw6	10,5	0,524

(1) - Dw7, Dw8, Dw9, Dw10, Dw11, Dw12 -

TABLEAU XV - Fréquences géniques de la série HLA-DR -

Spécificités	Fréquences antigèniques	Fréquences géniques
DRw 1	13,8	7,1
DRw 2	21,3	11,3
DRw 3	17,1	8,9
DRw 4	(23,0)	(12,3)
DRw 4x7	15,6	8,1
DRw5	29,8	16,2
DRw6	17,1	8,9
DRw7	27,4	14,8
W1A8	14,8	7,7
Blanc		16,5

- Les fréquences sont établies dans un panel de sujets cauca--soïdes européens (N=351), d'après les données de plusieurs laboratoi--res (7th Histocompatibility Workshop, 1977.) D'après COLOMBANI-1978b.

-(2) - DRw8, DRw9, DRw10 -

-(1) : Antigènes de découverte plus récente (1980) dont les fréquences sont en cours de détermination.

-(2) : Même remarque pour la série HLA-DR -

fique (cf. Chapitre II).

Les spécificités définies répondent aux critères d'une série allélique : corrélation négative entre spécificités dans le panel de référence, absence de triplets pour un individu donné, transmission comme des unités mendéliennes simples dans les familles. Le tableau XV fournit les fréquences géniques obtenues pour cette série allélique.

Les résultats obtenus permettent, par diverses caractéristiques résumées au tableau XVI, de considérer que les antigènes DR décrits sont bien l'équivalent des Ia murins.

La discussion fondamentale porte chez l'homme, comme chez la souris, sur les relations entre les structures responsables de la stimulation en MLR et les antigènes DR ; en d'autres termes, le locus D et le locus DR sont-ils identiques ou étroitement liés ou distincts ? Les expériences de blocage de MLR suggèrent une identité sans permettre de l'affirmer. En effet, les immums-sérums anti-DR peuvent contenir des anticorps méconnus dirigés contre les structures stimulantes. Même si ce sont les anti-DR eux-mêmes qui sont responsables du blocage, celui-ci peut être dû à un empêchement stérique au niveau de deux molécules voisines mais distinctes. En fait, comme nous l'allons voir, la discussion doit être élargie aujourd'hui à trois catégories de gènes.

c) Contrôle de la MLR II

La réponse proliférative secondaire accélérée est spécifiquement déclenchée par des structures de la cellule cible codées par la région HLA-D (MAWWAS et al., 1975 ; FRADELIZI et al., 1976). Ainsi le produit HLA-D responsable de la stimulation dans la MLR-I et les structures stimulantes de la MLR-II sont codés par la même région chromosomique ; ceci n'implique pourtant pas que ces deux produits soient absoluement identiques.

TABLEAU XVI - Caractéristiques communes aux antigènes Ia murins et aux antigènes DR humains.

1- Mise en évidence par sérologie;
2- Contrôle par des gènes étroitement liés aux gènes sérologique--ment définis;
3- Idépendance de ces antigènes par rapport aux antigènes sérolo--giquement définis, au niveau membranaire;
4- Distribution cellulaire restreinte à certaines cellules, et identi--que (voir Tableau VII);
5- Même structure biochimique:
'deux chaines glycoprotéiques (PM 29000 et 34000)'
"spécificités portées par une des chaines (29000) qui serait seule codée dans le complexe";
6- Capacité de bloquer la réaction lymphocytaire mixte par les an--ticorps anti-Ia ou anti-DR.

La précocité de la stimulation, notable dès la 48e heures, et la spécificité pour la région HLA-D de la réponse allogénique secondaire, ont conduit à proposer l'usage de lymphocytes préalablement sensibilisés au cours d'une MLR-I, in vitro, pour le typage des produits stimulants en MLR-II, contrôlés par la région HLA-D (SHEEHY et al., 1975 ; FRADELIZI, 1975). Cette méthode est appelée PLT (primed lymphocytes typing method), et les produits correspondants, stimulant la MLR-II, sont appelés structures PL (primed lymphocytes stimulating product). La nature exacte des structures PL est actuellement l'objet d'intenses recherches, de même que la nature des relations entre ces structures PL et les produits HLA-D. Deux observations méritent d'être retenues :

- l'action des rayons U.V. est la même sur les structures PL et HLA-D : inactivation de la stimulation. Par contre, les antigènes SD ne sont pas modifiés (MAWAS et al., 1975) ;

- le typage d'individus par les deux méthodes (PLT et cellules homozygotes HLA-D) indique une corrélation significative (CROSIER et al., 1977), mais les structures ne coïncident pas exactement.

d) Relations entre déterminants HLA-D (MLR-I), antigènes HLA-DR et structures PL (MLR-II)

Les produits de la région HLA-D on pu être étudiés par trois méthodes différentes : la MLR-I (HLA-D), la MLR-II (structures PL) et la sérologie (antigènes DR).

Il a donc été possible d'étudier les relations existant entre les trois types de déterminants ainsi mis en évidence, afin d'essayer d'expliquer les faits observés, tels que ceux relatés dans des travaux préliminaires, soit chez la souris (PECK et al., 1977 ; FATHMANN et al., 1977), soit chez l'homme (SASPORTES et al., 1976) suggérant que des déterminants Ia ou DR respectivement peuvent induire une réponse secondaire.

Les trois techniques utilisées ont donné des résultats concordants, mais non corrélés de façon absolue ; ceci peut correspondre soit à une sensibilité différente des méthodes, soit à une réalité biologique due à la complexité des produits de la région.

Il est actuellement impossible de conclure. De nombreuses équipes consacrent leurs travaux à cet aspect du complexe HLA, et pour illustrer les disparités obtenues lors du typage d'un certain nombre d'individus par les trois techniques, l'on peut rapporter les résultats récents de l'équipe de l'Hôpital Saint-Louis de Paris (SASPORTES et al., 1978 ; FRADELIZI et al., 1978 ; NUNEZ-ROLDAN et al., 1978), représentées et visualisées à la figure XVII.

Bien qu'une spécificité HLA-D donnée soit toujours corrélée à un produit PL, de nombreux individus porteurs d'une spécificité PL donnée n'ont pas la spécificité D attendue.

Les déterminants DR sont plus étroitement liés aux produits PL que ne le sont les spécificités HLA-D. Le calcul des corrélations entre les diverses réactions permet de quantifier les associations existantes ; le tableau XVIII donne les valeurs calculées. Le coefficient de corrélation très élevé entre les produits DR et PL favorise l'hypothèse d'une identité de fonctions entre ces différents déterminants.

Les déterminants DR ou PL ou des structures étroitement associées semblent avoir un rôle prépondérant dans l'induction de la MLR-II, inversement les spécificités HLA-D (MLR-I) ne paraissent pas impliquées dans la MLR-II.

Les divergences entre la sérologie (DR) et la réponse secondaire (PL) sont observées ; ces faits suggèrent que ce sont bien des déterminants différents des produits DR qui induisent la MLR-II.

FIGURE XVII - Répartition dans un échantillon de sujets non-apparentés, de groupe HLA connu, des produits "PL" (MLR II), en comparaison avec les antigènes DR (équivalents des Ia) et les spécificités HLA-D (MLR I). D'après SASPORTES et al. ,1978.

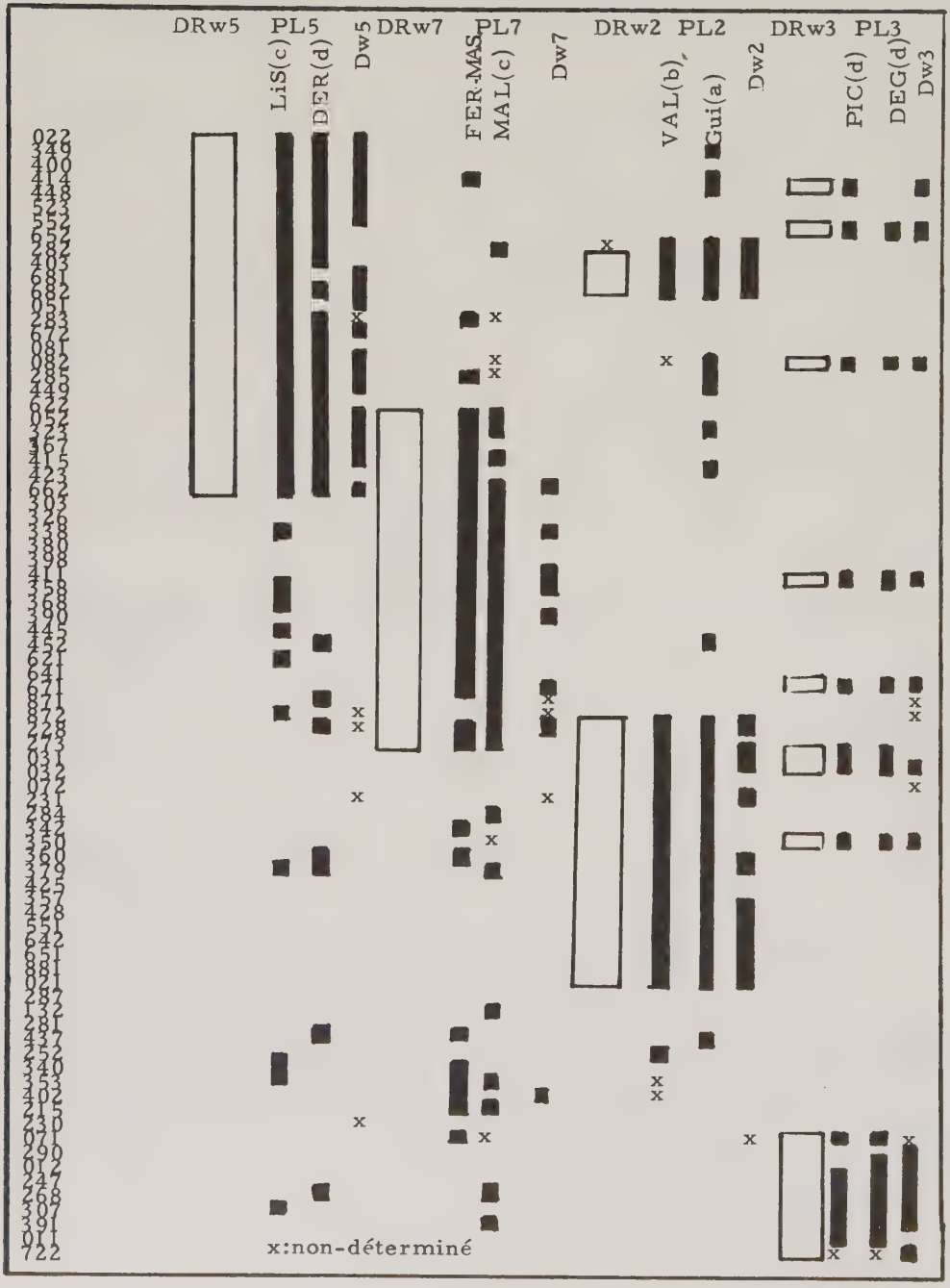


TABLEAU XVIII - Coefficients de corrélation (r) entre les spécificités DR, D et PL - D'après COLOMBANI, 1978b.

DRw/Dw	r	DRw/PL	r	Dw/PL	r
1/1	0,6				
2/2	0,7	2/II	0,8	2/II	0,8
3/3	0,8	3/III	0,9	3/III	0,5
5/5	0,8	5/V	0,9	5/V	0,7
6/6	0,6	6/VI	0,6	6/VI	0,6
7/7	0,4	7/VII	0,8	7/VII	0,4

Certains résultats suggèrent que les produits PL, DR et HLA-D sont des déterminants distincts.

Enfin, il semble exister une interaction des déterminants DR ou PL sur la MLR-I : en situation intrafamiliale HLA haploidentique, l'intensité de la MLR-I varie selon qu'il y a une incompatibilité HLA-D seule ou associée à une incompatibilité PL ou DR.

La complexité de la région "HLA-D" semble devoir susciter encore de nombreux travaux avant d'être appréhendée.

D. Les autres manifestations contrôlées par le complexe HLA

a) Facteurs du complément

Plusieurs facteurs du complément sont codés par des gènes localisés dans la région HLA. Le facteur Bf (properdine), proactivateur de C_3 par la voie alternative est contrôlé par un gène lié à HLA (ALLEN, 1974). Il en est de même d'un gène contrôlant la déficience du composant C_2 (FU et al., 1974) et de celui concernant le composant C_4 (RITTNER et al., 1975), C_2 et C_4 étant des facteurs de la voie classique. Ces trois gènes sont situés entre HLA-D et HLA-B.

b) Cytolyse à médiation cellulaire (CML)

Les antigènes des séries A,B et C sont considérés comme les cibles principales des effecteurs cytotoxiques. Les résultats de KRISTENSEN et GRUNNET (1975) suggèrent cependant l'intervention d'autres déterminants dans la CML.

La physiologie de la réponse allogénique semble correspondre à celle rencontrée chez la souris, avec deux phases : l'une, de reconnaissance ; l'autre, destructive. Des résultats récents suggèrent l'existence de deux populations lymphocytaires distinctes accomplissant chacune des deux tâches.

Comme nous l'avons vu, les structures responsables de la MLR-II ne sont pas exactement identiques à celles entraînant la MLR-I.

La cytolyse secondaire (CML-II) n'est pas en fait caractéristique d'une réponse secondaire. Elle est bien dirigée contre les cibles SD, mais n'est pas stimulée spécifiquement par les déterminants LD.

c) La réaction du greffon contre l'hôte (GvHR)

En fait, il s'agit ici de données cliniques concernant les cas de greffes de moelle osseuse. Si celles-ci ne posent aucun problème entre jumeaux monozygotes, l'étude des diverses situations rencontrées permet de dégager un rôle essentiel du locus HLA-D (KOCH et al., 1973 ; NEITHAMMER et al., 1976). Mais les résultats ne sont pas toujours facilement interprétables, et l'action d'autres gènes d'histocompatibilité, encore inconnus, est vraisemblable. De plus, la préimmunisation, par exemple, de la mère par l'enfant au cours de la grossesse vient compliquer ces études (GLUCKMAN et al., 1975), puisqu'on a alors à considérer une réponse secondaire.

Conclusion

L'étude du complexe HLA montre qu'il ressemble en tous points au complexe H-2, et ceci renforce l'idée de l'importance et de l'intérêt de ces travaux.

Chez l'homme, il existe également d'autres systèmes d'histocompatibilité ; l'action du système ABO avait été très tôt signalée, mais plus récemment ORIOL et al. (1977) ont montré le rôle du système LEWIS ; il est certain, bien sûr, que d'autres systèmes inconnus interviennent.

Pour finir, il faut souligner cependant que l'existence de gènes Ir au sein du complexe HLA n'a, pour l'instant, pas été montrée ; l'hypothèse la plus logique est de penser qu'ils

existent, mais comme le phénotype répondeur est dominant, il est difficile de rencontrer des individus non répondeurs, d'autant que les immunisations systématiques et expérimentales d'un grand nombre de sujets sont impraticables.

Enfin, l'observation de déséquilibres de linkage est une des données nouvelles apportées par l'étude du système HLA ; de l'association préférentielle de certains allèles, résulte certaines combinaisons haplotypiques plus fréquentes que ne le laisse prévoir le calcul de leur fréquence à partir des fréquences géniques et que ne le voudrait le hasard. L'existence de ces déséquilibres n'est pas encore interprétée ; mais elle a permis néanmoins de formuler diverses hypothèses relatives à la sélection et aux migrations, illustrées par des études de génétique des populations (DEGOS et DAUSSET, 1975 ; RYDER et al., 1978).

III. LE C.M.H. DANS LES AUTRES ESPECES

Parallèlement aux recherches développées chez la souris et l'homme, des études d'histocompatibilité ont été entreprises dans de nombreuses espèces : toutes les classes de la systématique des vertébrés ont été abordées, mais nous ne nous intéresserons, dans ce chapitre, qu'à l'étude des mammifères, classe par classe, pour laquelle le plus grand nombre d'espèces sont l'objet de recherches ; seuls le poulet et le xénope viendront compléter cette liste.

De nombreuses revues bibliographiques ont été consacrées à l'exposé des résultats obtenus pour chacune de ces espèces ; il sera impossible de présenter dans le détail les données théoriques, les méthodes et techniques spécifiques à chacune d'elles. Nous nous intéresserons, cependant, plus longuement à la connaissance de deux espèces d'intérêt zootechnique, le porc et le poulet, où les résultats déjà acquis sont assez nombreux. Pour les autres espèces, nous ne rapporterons que quelques particularités méritant

d'être signalées. Le tableau XIX fournit la liste des espèces que nous mentionnerons, et l'on peut constater que les recherches d'histocompatibilité ont connu un grand développement depuis 1960.

Enfin, nous pourrons voir que les comparaisons des résultats dans les diverses espèces, souris et homme compris, permet de constater une extraordinaire similitude de structure et de fonction, attribuable aux C.M.H., dont la caractéristique première et commune est le polymorphisme.

A. Le C.M.H. du xénope (Xenopus laevis)

Amphibien, Anoure primitif, dont l'apparition remonte à environ 300.10^6 années, le xénope possède un C.M.H. qui a été mis en évidence récemment (DU PASQUIER, 1975).

L'influence de ce système sur les allogreffes de peau est notable. Le système ségrège dans les familles comme un locus unique. Le rejet d'une greffe de peau est accompagné de la production d'anticorps hémagglutinants et les injections de sang total du donneur de peau élèvent le titre des anticorps de façon notable. Les sérums produits semblent spécifiques de l'haplotype incompatible. La même région chromosomique contrôle, seule, la MLR. Dans le cas de cultures mixtes à partir de cellules thymiques, on observe un net effet de dosage entre 1 et 2 haplotypes. Le polymorphisme sérologique semble élevé, de même que pour la MLR. Ainsi, 3 % seulement des cultures mixtes entre individus non apparentés issus de 13 familles se sont révélées négatives. Compte tenu du fait que toutes les familles proviennent d'un même élevage, ce qui nécessairement restreint la diversité, ces résultats indiquent que le polymorphisme du C.M.H. du xénope est comparable à celui des mammifères.

TABLEAU XIX - Espèces autres que la souris ayant fait l'objet d'études d'histocompatibilité -

ESPECE	APPELLATION DU COMPLEXE	REFERENCES (premiers travaux)
POULET	B	BRILES α MAC GIBBON, 1948
HOMME	HLA	DAUSSET-VAN ROOD et al., 1958.
CHIMPANZE	ChLA	BALNER et al., 1967, 1974.
MACAQUE Rh.	RhLA	BALNER et al., 1971, 1965.
CHIEN	DLA	KASAKURA et al., 1964.
PORC	SLA	VAIMAN et al., 1970.
LAPIN	RLA	TERASAKI et al., 1961 - DEMANT 1965.
RAT	AgB (H-1)	BOGDEN, APTEKMAN, 1960.
COBAYE	GPLA	BAUER, 1960. - DE WECK, 1971.
CHEVRE	GLA	VAN DAM et al., 1976.
MOUTON	OLA	MILLOT, 1971 - FORD, 1975.
CHEVAL	ELA	LAZARY, 1975.
BOVINS	BoLA	BOROVSKA, 1967 - OSTRAND- -ROSENBERG, 1974.
XENOPE	?	DU PASQUIER, 1975.

B. Le C.M.H. du poulet (Complexe B) (Figure XXIV)

Le système B du poulet a été identifié en 1948 en tant que groupe sanguin (BRILES, 1948). Aujourd'hui, plus de 20 allèles sont connus, contrôlant des antigènes, présentant une grande complexité de réactions sérologiques et dont la classification en spécificités privées et publiques s'ébauche (PAZDERKA, 1974). La présence des antigènes du système B sur les lymphocytes a été démontrée (SCHIERMAN et NORDSKOG, 1962). Un locus identique ou étroitement lié au locus "B", contrôle la réaction du greffon contre l'hôte (BOYER, 1960). Celle-ci sous la forme locale de pustules chorio-allantoïdiennes, qui se développent lors de l'inoculation de cellules lymphoïdes immunocompétentes dans la membrane chorio-allantoïdienne de l'embryon représente un test très sensible. La MLR est contrôlée par le locus "B" (MIGGIANO et al., 1974) ou du moins par un locus étroitement lié. La production d'anticorps vis-à-vis de plusieurs antigènes : sérumalbumine bovine ou humaine, polysaccharide de pneumocoque, DNP (2,4 dinitrophénol) couplé à des immunoglobulines de poulet, le (T,G)A-L, varie selon les allèles prouvant ainsi l'intervention du complexe B.

BALCAROVA (1973 a, 1973b, 1974), GUNTER et al. (1974) et KARAKOZ et al. (1974) ont relaté l'association avec le locus "B" de la sensibilité à la tuberculine. Il existe une association entre le niveau d'activité hémolytique du complément sérique et le complexe B (CHANH, 1976). Enfin, l'existence de cellules T suppressives a été suggérée récemment (KOCH et SIMONSEN, 1977), et l'on a pu relier le complexe B à la sensibilité à deux maladies: la maladie de Marek (BRILES, 1977) et une thyroïdite autoimmune dans une souche obèse de poulet.

L'existence d'équivalents des antigènes Ia murins a été découverte, le complexe B comprenant deux types de gènes codant les uns pour les antigènes "B" (homologues des SD des autres espèces), les autres, pour les antigènes "B-L" absents

de la surface des globules rouges (équivalents des Ia) (ZIEGLER et PINK, 1975). Les résultats d'analyse biochimique (ZIEGLER et PINK, 1976) mettent en évidence l'existence de deux catégories de molécules à la surface des leucocytes : la première catégorie se compose de deux chaînes polypeptidiques de PM respectifs 40 000 et 120 000, la chaîne lourde étant une glycoprotéine portant les spécificités antigéniques. La chaîne légère pourrait être la β-2-microglobuline découverte par ailleurs (WINKLER et SANDERS, 1977) ; la seconde catégorie possède un poids moléculaire d'environ 30 000 et serait constituée d'une chaîne unique.

Il est à noter que le complexe B pourrait également jouer un rôle important dans la biologie de l'individu et de l'espèce : différents auteurs ont en effet trouvé des corrélations entre certains génotypes B et des paramètres de performance aussi variés que la fertilité, le taux d'éclosion, le poids des oeufs, ainsi que le taux de mortalité néo-natale ou de l'adulte.

L'organisation génétique du complexe B est actuellement en cours de définition. L'observation de recombinants (SCHIERMAN et MAC BRIDE, 1969) a suggéré l'existence de plusieurs loci codant pour les antigènes B. Des travaux récents permettent de distinguer deux régions (HALA et al., 1976), l'une étant porteuse des déterminants "B" et "B-L" déjà décrits ; l'autre, portant les déterminants "B-G", codant pour des antigènes érythrocytaires, n'ayant aucune fonction d'histocompatibilité. La synthèse de ces résultats (cf. Schéma XX) nécessite l'hypothèse d'un modèle à 3 loci (PINK et al., 1977), la relation entre les antigènes B et B-G n'étant pas entièrement expliquée. L'étude de séquence des chaînes lourdes des antigènes SD classiques montre une analogie remarquable avec les résultats obtenus chez l'homme et la souris (VITETTA et al., 1977).

SCHEMA XX - Présentation du Complexe B du poulet; modèle à trois loci; D'après PINK et al., 1977.

Régions	B-F		B-G
Loci	B	B-L	B-G
Présence des produits sur les hématies	+	-	+
Présence des produits sur les leucocytes	+	+ (1)	-

(1) : seulement lymphocytes B et monocytes.

C. Le C.M.H. H-1 (Ag-B) du rat (Figure XXIV)

Le complexe majeur d'histocompatibilité a été mis en évidence par plusieurs équipes, indépendamment les unes des autres, ce qui explique la diversité d'appellations rencontrées dans la littérature : Ag-B (ELKINS et PALM, 1966), RtH-1 ou H-1 (STARK et KREN, 1967), R-1 (BODGEN et APTEKMAN, 1960). Les études sérologiques ont permis de définir un nombre limité d'haplotypes différents (PALM, 1973) ; le polymorphisme est restreint (KUNZ, 1974) et, de plus, par opposition avec le complexe H-2 de la souris, ici une seule spécificité privée caractérise un haplotype : ceci signifie qu'une seule extrémité analogue d'H-2K ou H-2D serait présente.

De la même manière, le polymorphisme des gènes contrôlant la MLR est faible (CRAMER et al., 1977), la distinction entre les deux types de gènes ayant été établie à l'aide de recombinants (WILLIAMS et MOORE, 1977), sans que plus de précision sur l'organisation génétique de H-1 soit disponible. Cette "carence" de polymorphisme ne peut être attribuée à un biais d'échantillonnage, car les populations sauvages ne présentent pas plus de diversité.

D. Le C.M.H. GPLA du cobaye (Figure XXIV)

La mise en évidence du complexe GPLA du cobaye a été accompagnée de faits particuliers et est très récente (de WECK, 1971). Les animaux utilisés appartiennent à des souches hautement consanguines : 2 et 13, ou à différentes colonies à consanguinité plus limitée. Il est à noter que les cobayes des souches 2 et 13 sont identiques pour les antigènes d'histocompatibilité classiques. Ce sont les immunisations pratiquées entre cobayes d'un élevage clos mais maintenu par croisements au hasard, que l'on a produit des antisérums reconnaissant 5 antigènes d'histocompatibilité. Ceux-ci se répartissent en deux séries alléliques : B et S. Les immunisations réciproques des cobayes 2 et 13 suscitent cepen-

dant la production d'antisérums actifs vis-à-vis d'antigènes dont la répartition tissulaire rappelle celle des Ia murins. Ce résultat indique que la région I du cobaye est distincte des régions B et S considérées comme les analogues des H-2K et H-2D (de WECK, 1976).

Les études physico-chimiques et les expériences de précipitation sélective des antigènes des séries B, S et I après leur solubilisation permettent d'avoir une idée précise de l'organisation génétique du C.M.H. du cobaye. Le tableau XXI résume les principaux résultats (SHEVACH, 1977).

Tableau XXI : COMPARAISON ENTRE LES DIFFERENTS ANTIGENES CODES PAR LE C.M.H. DU COBAYE

Région	B	S	I
Antigènes	B_1 B_2 B_3 B_4	S	$Ia_{1,2,3,4,5,6,7}$
Distribution tissulaire	Ubiquitaire		Lymphoréticulaire B +++, T +
Structure biochimique	Glycoprotéine : 40 000 daltons associée à une molécule de 12 000 daltons		Glycoprotéine de 25 000 et 33 000 daltons. Absence d'association avec une molécule de 12 000 daltons.

Ces résultats confirment l'analogie existant entre GPLA et H-2 ou HLA :

- Il existe 3 loci Ia codant pour des molécules indépendantes : $Ia_{2,3 \text{ et } 5}$; $Ia_{4,\ 5 \text{ et } 7}$; $Ia_{1 \text{ et } 6}$.
- De nombreux gènes Ir sont liés au GPLA (BENACERRAF, 1972b).
- Le contrôle de la culture lymphocytaire mixte dépend plus de la région I que des gènes B et S.
- Les cobayes homozygotes pour l'allèle B_1 ont une déficience du constituant C_4 du complément, qui semble lié à un

défaut d'un gène de structure (SHEVACH, 1976). Il y a ainsi un linkage étroit entre le complexe GPLA et le gène qui code pour C_4, et on retrouve ici l'étroite correspondance qui existe entre les différents C.M.H.

E. Le C.M.H. RLA du lapin (Figure XXIV)

L'organisation génétique du C.M.H. du lapin n'est pas connue. Les études sérologiques ont permis d'identifier 9 allèles codant pour les antigènes classiques (TISSOT et COHEN, 1972). La culture mixte est sous le contrôle exclusif du C.M.H. (TISSOT et COHEN, 1974) et des études préliminaires indiquent la présence de gènes Ir.

F. Le C.M.H. DLA du chien (Figure XXIV)

Le chien étant utilisé de façon importante dans l'expérimentation sur les allogreffes de tissus et d'organes, les recherches sur l'histocompatibilités dans cette espèce ont été activement poursuivies. La région chromosomique comportant le C.M.H. DLA est actuellement relativement bien connue. L'organisation génétique du complexe est très semblable à celle du complexe HLA ; 3 loci (DLA-A, DLA-B, DLA-C), sérologiquement définis ont été identifiés (ALBERT, 1973 ; VRIESENDORP et al., 1976) ; 2 loci contrôlant la MLR, un majeur et un mineur, sont connus, mais un seul (DLA-D) a été placé avec certitude à gauche de DLA-A. Le locus DLA-E contrôlant la MLR mineure a été placé provisoirement à droite de DLA-B (VRIESENDORP, 1977).

Enfin, on observe également chez le chien un fort déséquilibre de linkage pour certaines combinaisons haplotypiques, et la présence d'un locus codant pour la PGM_3 (phosphoglucomutase 3) auprès du complexe DLA. La mise en évidence de gènes Ir par contre différencie les résultats obtenus chez le chien de ceux obtenus chez l'homme. Les antigènes Ia n'ont pas encore été individualisés.

G. Le C.M.H. SLA du porc (d'après VAIMAN, 1978) (Figure XXIV)

Le C.M.H. du porc présente une organisation génétique très comparable à celle connue pour le complexe HLA de l'homme. Les antigènes classiques, dont 20 sont actuellement assez bien définis, sont contrôlés par des gènes appartenant à 3 séries alléliques distinctes groupées dans une même région (VAIMAN, 1974). La réaction lymphocytaire mixte est, quant à elle, sous le contrôle d'une région située à environ 0,5 centimorgans de la région SD. En effet, 6 des 7 haplotypes recombinés qui ont pu être décelés au cours du typage (VAIMAN, 1975 ; SACHS et al., 1976) d'un millier de porcelets dans les familles étaient le résultat d'un remaniement s'étant produit entre les groupes de gènes. Un seul recombinant concernait 2 gènes de la région SD classique, apportant ainsi la preuve de l'existence d'au moins 2 séries alléliques. Une troisième série était suggérée par des études sérologiques de population et fut confirmée par les résultats d'expériences de séparations biochimiques et ceux obtenus par la technique de la modulation antigénique. Chacune de ces trois populations moléculaires est constituée d'une sous-unité protéique de PM 27 000 daltons associée à une molécule de 12 000 daltons identique à la β-2-microglobuline du porc (ARNOUX - CHARDON, 1974 ; CHARDON - VAIMAN, 1977).

Un même antigène porte une spécificité privée associée à une ou plusieurs spécificités publiques.

En ce qui concerne la région contrôlant la MLR, on dispose de 6 cellules homozygotes différentes, qui sont d'ailleurs loins de recouvrir toutes les spécificités existantes. Par immunisation entre frères ne différant que pour cette région du complexe, il a été facile de produire des antisérums dirigés contre les antigènes équivalents des Ia murins (DR chez l'homme) (VAIMAN, 1978, 1975 ; LUNNEY et SACHS, 1979).

L'analyse biochimique des antigènes Ia-équivalents du porc a révélé que leur structure était la suivante : deux chaînes

TABLEAU XXII - Allèles des séries SD et LD du Complexe SLA du porc. (D'après VAIMAN- HLA 1978.)

Séries SD	Fréquence gènique		Séries LD
	Race Large-White (b)	Race Landrace (c)	
SLA-A1	0,178	0,117	
SLA-B15	0,167		
SLA-C18	0,172		LD1 (d)
			LD2
SLA-2 (a)	0,112	0,260	LD3
3	0,044		LD4
4	0,020		LD5
5	0,164		LD6
6	0,022		
7		0,197	
8	0,022	0,241	
9	0,067	0,026	
10	0,055	0,076	
11	0,067	0,024	
12	0,010		
13 (e)			
16	0,031		
17	0,012		
19			

- a : Les antigènes SLA-2 à 17 n'ont pas encore pu être répartis dans l'une des trois séries SD.
- b : Fréquences calculées sur 90 animaux.
- c : " " " 60 "
- d : LD1 est en fort déséquilibre de linkage avec SLA-A1, SLA-B15 et SLA-C18.
- e : Pas de données chiffrées.

glycoprotéiques de PM 31 000 et 25 000, non associées à une molécule du type β-2-microglobuline. Le site antigénique semble porté par la chaîne légère (LUNNEY et SACHS, 1978).

Il existe un important déséquilibre de linkage entre tous les gènes codés par un haplotype. Ceci explique que les analyses sérologiques n'ont pas permis jusqu'à présent de répartir les spécificités connues dans les trois séries.

Le complexe SLA code pour un gène Ir lysozyme de poule (VAIMAN, 1979). Il intervient également sur le niveau du complément hémolytique et sans doute plus précisément sur le taux du constituant C_4 (VAIMAN, 1977).

Le complexe SLA appartient au même groupe de linkage que les systèmes de groupes sanguins J et C (HUBRAN, 1976). Il est à 10 unités de recombinaison de J, J et C, quant à eux étant distants de 5,5 centimorgans. L'ordre entre ces régions n'est pas connu.

Le système de groupe sanguin E du porc paraît être un système mineur d'histocompatibilité (HUBRAN, 1974). Il s'agit d'un système complexe, polymorphe avec plus de 13 allèles contrôlant des antigènes complexes. Il pourrait être constitué de 3 loci très liés rappelant la structure proposée pour le système Rhésus de l'homme.

Le tableau XXII donne les fréquences géniques des antigènes des séries SD et LD chez le porc.

Le tableau XXIII donne les phénotypes les plus fréquents dans les cinq races de porc étudiées.

H. Le C.M.H. des primates (autres que l'homme)

En raison de leur parenté phylogénique avec l'homme, l'étude du C.M.H. chez d'autres primates est d'un grand intérêt biologique.

TABLEAU XXIII - Phénotypes les plus fréquents dans les cinq races de porcs étudiées.

RACE	PHENOTYPE	FREQUENCE
Large-White	SLA-1-15-18	28%
Piétrain	SLA-13-9	34%
Landrace Français	SLA-9 SLA-2-8	24%
Landrace Belge	SLA-2-7 SLA-2-8	20% 32%
Blanc de l'Ouest	SLA-8	15%

a) Le complexe RhLA du macaque Rhésus (Figure XXIV)

Cette espèce a été particulièrement étudiée du fait de sa grande facilité d'approvisionnement et de ses possibilités de reproduction en captivité.

Historiquement, c'est la première espèce animale, non consanguine, pour laquelle on ait démontré la liaison génétique de plusieurs loci sérologiquement définis (ROGENTINE et al., 1971 ; BALNER, 1974a et 1974b).

Sur le plan de l'organisation génétique (cf. figure XXIV), il y a deux séries alléliques contrôlant les antigènes classiques, avec chacune 10 allèles connus. Situé à l'extérieur de la région définie pour ces deux loci, et à environ 1 % de recombinaison, se trouve(nt) le(s) gène(s) codant pour la MLR. La fréquence de recombinaisons entre les deux séries alléliques est également de 1 %. Les antigènes équivalents des Ia murins se répartissent en 2 séries distinctes, leur localisation étant encore provisoire, les situant plutôt du côté des séries SD (BALNER, 1976).

On connaît deux gènes de réponse immunitaire : Ir-GL et Ir-GA.

Comme chez l'homme, un locus contrôlant le polymorphisme du facteur properdine est lié à RhLA (ZIEGLER, 1975).

Les antigènes classiques ont un poids moléculaire de 40 000 daltons et possèdent la β-2-microglobuline. Les antigènes Ia sont des molécules distinctes non associées à cette protéine.

b) Le complexe ChLA du chimpanzé (Figure XXIV)

Contrairement au rhésus, le nombre de chimpanzés disponibles est faible. Aussi, les connaissances relatives au complexe ChLA se limitent-elles à des résultats sérologiques obtenus soit avec les antisérums allogéniques, soit avec des sérums anti-HLA, ce qui suggère bien évidemment une homologie entre l'homme et le

chimpanzé. La réactivité croisée entre les antigènes HLA et ChLA est grande, et la stimulation lymphocytaire entre cellules de chimpanzé et cellules humaines est possible (BALNER, 1974c, 1971).

c) L'histocompatibilité chez les autres primates

Il faut signaler l'existence de travaux dans trois espèces de Babouins : Papio ursinus, P. cynophalus et P. anubis. Mais aucun système majeur d'histocompatibilité n'a pu être mis en évidence.

Deux espèces du genre Macaca (M. irus et M. arctodes) ont également fait l'objet de quelques investigations peu fructueuses.

L'utilisation de sérums anti-HLA, anti-RhLA, anti-ChLA pour tester des cellules humaines, des cellules de macaque Rhésus, de chimpanzé ou d'autres singes (gorilles, orang-outans), permet de constater que, d'une part, il existe des similitudes entre les antigènes HLA et ChLA, et que, d'autre part, il existe des similitudes entre les autres espèces ; seules les spécificités HLA-4a et HLA-4b semblent être présentes dans toutes les espèces ; on désigne alors les antigènes correspondants "substances de base" à partir desquelles les antigènes tissulaires des primates auraient évolué (BALNER et al., 1971 ; VAN ROOD et al., 1972).

I. Le C.M.H. des ruminants (Ovins, Caprins et Bovins)

Ovins (OLA)

Les travaux de MILLOT (1978) permettent de définir un système d'antigènes lymphocytaires sérologiquement définis, comportant 2 loci : OLA-A et OLA-B distants de 0,6 unités de recombinaison, correspondant au complexe majeur d'histocompatibilité.

Caprins (GLA)

Peu de travaux sont à signaler. Sa mise en évidence par VAN DAM et al. est récente (1976), et l'organisation génétique du système n'est pas encore connue.

Bovins (BoLA) (cf. figure XXIV)

Ce n'est que très récemment que des études directement dévolues à la mise en évidence d'antigènes lymphocytaires ont été entreprises par divers laboratoires, dont celui des "groupes sanguins animaux" du C.N.R.Z. (INRA) de Jouy-en-Josas. Un travail récent (USINGER, 1977) semble indiquer que la MLR est contrôlée par au moins 2 gènes liés. Les tests sérologiques sont, d'après les auteurs, en accord avec la ségrégation des gènes contrôlant la MLR.

Il semble bien, donc, exister, chez les bovins, un système complexe qui présente les caractéristiques d'un C.M.H. Son individualisation ne saurait tarder (article sur la sérologie de BoLA en préparation : SPOONER, 1978).

J. Le C.M.H. (ELA) du cheval

La première caractérisation d'alloantigènes lymphocytaires chez le cheval a été rapportée par LAZARY et al. en 1975, et a abouti à la définition du système ELA. L'existence d'une alloimmunisation foetomaternelle et le polymorphisme du système ont été démontrés. L'analyse des résultats de tests pour les sérums les moins polyvalents éprouvés sur les cellules d'une centaine de chevaux a permis la reconnaissance de 17 spécificités contrôlées par un système unique, ceci étant confirmé dans les familles. L'observation d'un recombinant dans l'une d'elles indique que ces spécificités sont contrôlées par au moins deux séries alléliques distinctes. La MLR dans les familles indique que ELA contrôle la réaction. LAZARY et al. (1978) ont montré que les chevaux étudiés (50) (ayant, au préalable, reçu une injection d'anatoxine) se répartissent en forts et faibles répondeurs à la

toxine tétanique, correspondant respectivement à plus de 2 000 UI/ml et à moins de 500 UI/ml. Il se trouve que les forts répondeurs, et non les faibles, sont positifs avec les sérums n° 27 et n° 31 qui, avec d'autres réactifs, définissent la spécificité 5. Toutefois, on observe une grande variabilité. Ce résultat permet d'envisager une éventuelle sélection de bons producteurs de sérums.

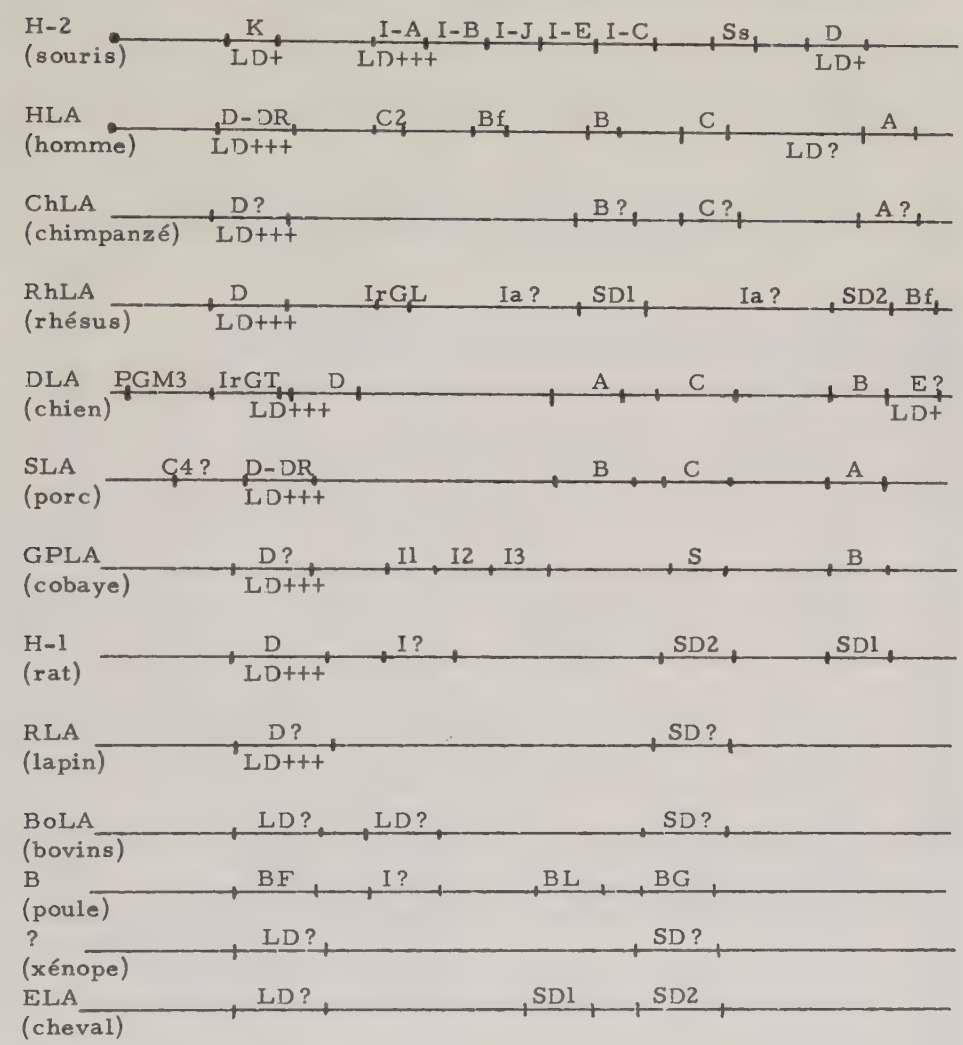
Conclusion : Comparaison des résultats obtenus dans les diverses espèces (Tableau XXV, Figure XXIV)

Les études développées dans le domaine de l'histocompatibilité dans de nombreuses espèces ont donc permis de mettre en évidence, dans tous les cas où il a été recherché, un Complexe Majeur d'Histocompatibilité (du moins chez les mammifères).

Ce fait est d'autant plus remarquable que les connaissances détaillées obtenues pour chaque espèce laissent entrevoir une très grande similarité ; la tableau XXV visualise cette concordance des observations ; les divers groupes et fonctions appartenant au complexe H-2 (voir Schéma X) de la souris sont retrouvés dans les autres espèces, soit totalement (chez l'homme par exemple), soit partiellement dans les autres cas. Il apparaît alors que les caractéristiques attribuées au complexe H-2 (voir tableau XXVI) également vérifiées par les autres complexes d'histocompatibilité, peuvent être considérées plus généralement comme caractéristiques d'un C.M.H. La seule originalité du complexe H-2 par rapport aux autres espèces de mammifères est la présence de la région LD entre deux régions SD, et la présence des antigènes d'histocompatibilité majeurs classiques sur les hématies.

Il est actuellement impossible de comprendre dans leur complexité l'ensemble des mécanismes et phénomènes dépendant de ce segment chromosomique.

FIGURE XXIV - Organisation génétique du complexe d'histocompatibi-
-lité majeur dans les différentes espèces étudiées.



-Dans le cas de HLA et de H-2, le centromère se trouve à la gauche du complexe. Cette orientation n'étant pas encore connue pour le C. M. H. des autres espèces, la disposition par rapport à HLA des régions fonc-
-tionnellement homologues est arbitraire. Les croix (+) indiquent le ni-
-veau de la réponse de la MLR. Le point d'interrogation (?) souligne que la localisation est encore hypothétique.

-K et D chez la souris, B, C et A chez l'homme, et les loci SD sont les loci codant pour les antigènes d'histocompatibilité classiques.

-Ss est le groupe de gènes codant pour une protéine sérique qui est le constituant C4 du complément, au même titre que les gènes C2 et Bf, le proactivateur de C3.

-Ir est le gène contrôlant la réponse immunologique pour des antigènes thymodépendants.

TABLEAU XXV - Espèces ayant fait l'objet d'études d'histocompatibilité. Comparaison des résultats. Groupes de gènes et fonctions étudiées et retrouvées dans chaque espèce.

Espèce	Appellation du complexe	SD	LD	Ia	Ir	Complément	CML	GvHR	Coopération cellulaire
Poulet	B	+	+	+	+	+		+	
Souris	H-2	+	+	+	+	+	+	+	+
Homme	HLA	+	+	+		+	+	+	
Chimpanzé	ChLA	+	+						
Macaque Rhésus	RhLA	+	+	+	+	+			
Chien	DLA	+	+		+				
Porc	SLA	+	+	+	+	+			
Lapin	RLA	+	+						
Rat	H-1	+	+		+			+	
Cobaye	GPLA	+	+	+	+	+		+	
Chèvre	GLA	+							
Mouton	OLA	+							
Cheval	ELA	+							
Bovins	BoLA	+	+						

TABLEAU XXVI - Propriétés caractéristiques du Complexe d'histo-compatibilité majeur de la souris.

Propriétés Générales		1- Système génétique unique pour une espèce 2- Système complexe, comprenant plusieurs loci étroitement liés 3- Polymorphisme élevé à chaque locus 4- Système d'histocompatibilité le plus "fort" : influence prépondérante sur le rejet des greffes
Groupes de gènes et fonctions	SD	- Codent les antigènes lymphocytaires sérologiquement détectables et largement distribués sur les autres tissus. - Obtention d'anticorps cytotoxiques facile par immunisation. - Contrôlent les cibles de la cytolyse à médiation cellulaire.
	LD	- Contrôlent la réaction lymphocytaire mixte - Contrôlent la réaction du greffon contre l'hôte
	Ia	- Codent les antigènes sérologiquement détectables présents sur certaines cellules
	C	- Codent certains facteurs du complément
	Ir, Is	-Gènes de la réponse immunitaire : contrôle de la réponse ou de la suppression.
	Coopération Cellulaire	- Contrôlent certains facteurs solubles impliqués dans les mécanismes de coopération cellulaire de la réponse immunitaire.

Chapitre II

MATERIEL D'ETUDE
ET TECHNIQUES GENERALES

Comme nous l'avons précisé lors de l'introduction, il nous est apparu important de consacrer une partie entière de la rédaction à une présentation relativement détaillée du matériel d'étude et des méthodes et techniques générales d'expérience. Ceci pour deux raisons fondamentales : tout d'abord, parce que l'immunologie et *a fortiori* l'immunogénétique nécessitent des techniques très particulières pour la recherche en laboratoire.

Ensuite, le sujet que nous abordons ici étant d'une telle nouveauté pour le monde de la Médecine Vétérinaire, il nous est apparu nécessaire de saisir l'occasion pour en exposer les principes techniques élémentaires.

A. ANIMAUX D'EXPERIENCE

Nous avons utilisé les éléments figurés du sang de près de 100 animaux.

Ces derniers peuvent être considérés comme non-apparentés (bien que pour une fraction d'entre eux la vérification n'ait pas été possible). Les principales races représentées sont : la race Large-White, la race Landrace-Français, la race Landrace-Belge, la race Piétrain et la race Blanc-de-l'Ouest.

Les animaux sont de plusieurs sources :

- l'une, constituée par les porcs d'abattoir ;
- l'autre est représentée par les jeunes verrats destinés à la reproduction des centres de testage (animaux de race pure provenant d'élevages identifiés).

B. ECHANTILLONS DE SANG

1. Obtention

Porcs d'abattoir : le sang est recueilli au moment de l'abattage, directement à la plaie de saignée, l'animal étant sous narcose électrique. Il est nécessaire de prélever les premiers flux de sang avant le début de la coagulation.

Porcs non destinés à l'abattage : la seule technique adéquate pour le porc est la ponction au niveau du carrefour des veines jugulaires et des veines caves. L'animal est contenu debout à l'aide d'un lasso métallique au niveau de la mâchoire supérieure. Les jeunes sujets de 5 à 10 kg et les sujets anesthésiés sont maintenus en décubitus dorsal. Les repères anatomiques sont les suivants : l'extrémité antérieure du sternum, la trachée et le muscle pectoral transverse, qui délimitent une petite gouttière. L'aiguille est implantée en son creux, d'avant en arrière et de dehors en dedans. Le confluent veineux est atteint, sur le plancher du sternum, au niveau de la première côte. On doit exercer une pression continue, compte tenu de l'absence de compression en amont et de l'insuffisance de pression sanguine dans la veine (VAIMAN, 1974).

2. Conservation

Selon les besoins, le sang est recueilli sur anticoagulant ou défibriné sur billes de verre.

Anticoagulants utilisés :

- Héparine : 3 mg pour 10 ml de sang.
- Ethylène Diamine Tétracétique (E.D.T.A.) : 1 volume à 5 % dans l'eau distillée pour 4 volumes de sang.
- Citrate trisodique a : 1 volume pour 4 volumes de sang. (CTSa ou ACD = Citrate trisodique (1,47 g), acide citrique (0,61 g), glucose (3 g), eau distillée qsp (100 ml)).

Défibrination sur billes de verre :

On utilise une bille de verre de 2 à 3 mm de diamètre pour 3 à 6 ml de sang. Une douce agitation de 4 à 6 mn est nécessaire pour assurer la formation du caillot de fibrine (VAIMAN, 1974).

C. ELEMENTS FIGURES DU SANG

1. Technique de préparation des lymphocytes par sédimentation

La technique utilisée est celle mise au point par BOYUM (BOYUM, 1968). C'est la méthode au ficoll-triosil (cf. annexe milieux).

N.B. : Pour la composition des divers produits et solutions utilisés, on se reportera à l'annexe consacrée aux milieux et joint au présent chapitre.

Le sang est recueilli hépariné ou défibriné, puis dilué au 1/4 dans une solution de Hanks ou de P.B.S.

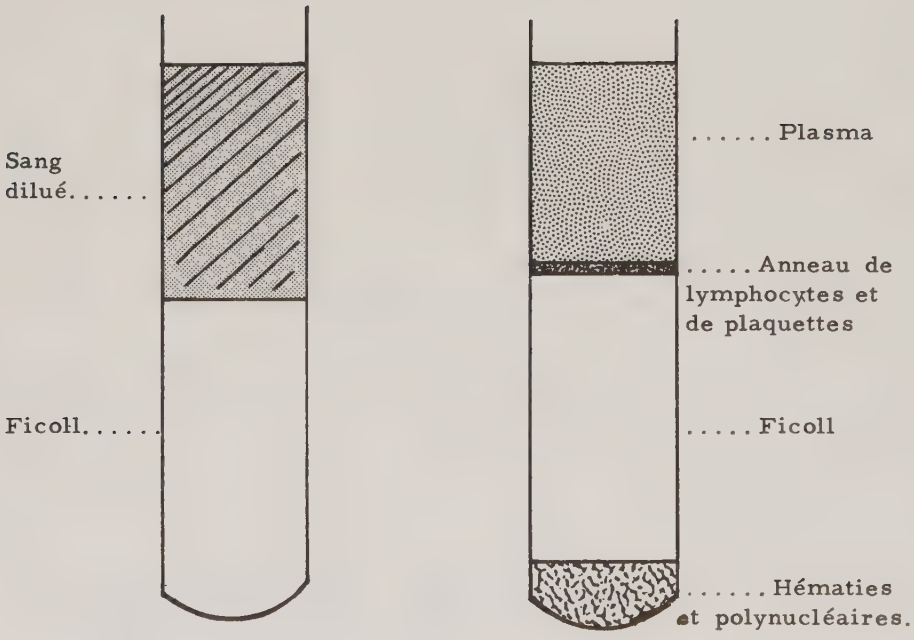
Réparti en tubes à hémolyse de 5 ml dans lesquels on a disposé au préalable 2 ml de la solution de Ficoll-triosil. Le sang est déposé avec précaution, en inclinant le tube, à la surface du Ficoll, en évitant le mélange des deux milieux (cf. Schéma XXVI b).

Les tubes sont centrifugés à la température de 20°C et avec une accélération de 1 000 g pendant 20 mn.

A la fin de la centrifugation, les globules rouges et les polynucléaires sont rassemblés en un culot au fond du tube, lymphocytes et plaquettes formant un disque flou à l'interface du sérum et du Ficoll-triosil.

Ce disque est prélevé avec une pipette Pasteur en même temps que du sérum et du Ficoll (N.B. : il est important de limiter au maximum le prélèvement de ces deux liquides, car les

SCHEMA XXVI[b] - Technique de préparation des lymphocytes par le Ficoll-Triosil: le tube de gauche montre le sang dilué au quart déposé sur le Ficoll; le tube de droite donne le résultat de la centrifugation.



N. B. : Lors de préparation sur sang défibriné, le plasma est rem-placé par du sérum et les plaquettes n'apparaissent pas dans l'anneau -

cellules mortes ou en mauvais état s'y sont réparties pendant la centrifugation, ayant acquis, de par leur baisse de vitalité, une densité différente.

Le prélèvement subit une seconde centrifugation à 225 g, à 20°C pendant 10 mn.

Le culot de cellules est repris dans un volume adéquat de liquide de Hanks, après élimination du surnageant.

Les suspensions cellulaires obtenues renferment 95 % de lymphocytes, avec une viabilité de 95 à 100 % et un rendement de 50 %.

2. Technique de préparation des plaquettes

Le sang est prélevé sur E.D.T.A., dans des flacons de verre siliconné ou de plastique. On opère une première centrifugation à 200 g, 20 mm à 10°C. Le plasma, riche en plaquettes, est récupéré, puis centrifugé à 1 800 g, 30 mn, à 10°C. Le surnageant est éliminé, les hématies hémolysées par 4 volumes d'eau distillée.

On rétablit ensuite l'isotonicité avec un volume de NaCl à 4,5 %, puis on lace à trois reprises par une solution de NaCl à 9 %.

Enfin, le nombre de plaquettes est ajusté par comptage, à $2\ 10^9$ cellules par ml dans une solution de NaCl à 9 % additionnée d'azide de Sodium à 1 %, le tout étant stocké à la température de 4°C.

3. Technique de congélation des lymphocytes

Les lymphocytes en suspension dans du liquide de Hanks sont dilués dans un égal volume de D.M.S.O. (diméthylsulfoxyde) à 20 % dans un tampon phosphate (Na_2HPO_4, 12 H_2O... 2 g ; KH_2PO_4 anhydre... 0,2 g; NaCl... 8,5 g ; H_2O q.s.p. 100 ml).

Le cryoprotecteur est ajouté goutte à goutte à 4°C sous agitation continue. Les cellules sont conditionnées dans des paillettes en plastique de 0,5 ou 0,025 ml. La méthode est celle préconisée par HORS (1973).

Le système de congélation est schématisé sur la figure XXVII.

N.B. : le réservoir à azote liquide est à large ouverture et rempli au 1/3 de sa capacité.

Les paillettes sont déposées à plat sur un plateau à fond grillagé, dont la hauteur par rapport au niveau de l'azote est réglable.

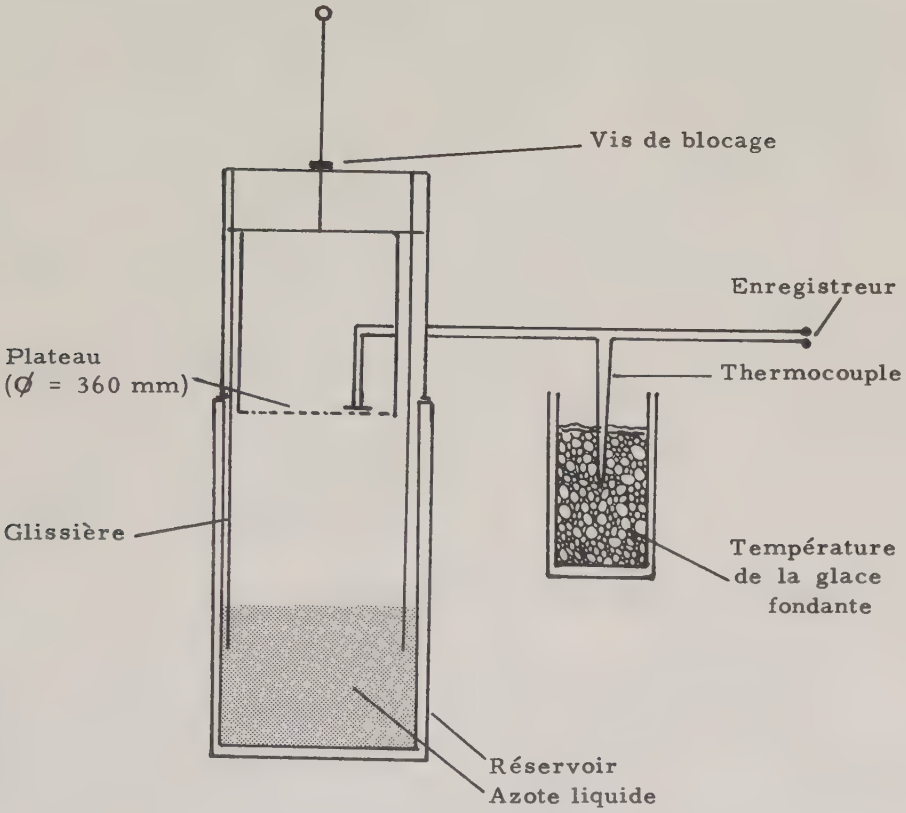
On procède à chaque congélation à un contrôle de la vitesse de refroidissement, grâce à un thermocouple Cuivre-Constantan dont l'une des soudures est placée dans une paillette et l'autre dans la glace fondante.

La courbe de refroidissement est alors enregistrée, et ceci de façon continue. Les corrections de vitesse sont faites en fonction d'une courbe moyenne prétracée et correspondant à une viabilité satisfaisante des cellules.

Une fois la température de -50°C, -60°C atteinte, le plateau est laissé 1 à 2 cm au-dessus de l'azote liquide, pendant 3 à 5 mn, puis plongé dans le liquide. Les paillettes sont stockées dans l'azote liquide à -196°C.

A présent, une technique plus simple consiste à mettre des ampoules plastiques dans une boîte de polystirène dans un congélateur à -30°C. Après 24 heures les ampoules sont remises dans l'azote.

FIGURE XXVII - Système à congélation.



4. Décongélation des lymphocytes

Dès la sortie du container à azote liquide, les paillettes sont immergées dans un bain-marie à 39°c, pendant 12 à 15 secondes. Les cellules sont alors remises en suspension dans un mélange à 39°c :

= Sérum de porc de groupe sanguin A+
  Liquide de Hanks ..... ââ, ceci pour laver les cellules de leur cryoprotecteur.

On centrifuge 5 mn à 225 g. Le culot est repris dans du liquide de Hanks.

Le rendement de récupération observé est de 30 à 50 %, la viabilité, en général, supérieure à 80 %.

Moins de 1 % des cellules sont inutilisables en cytotoxicité du fait de leur trop faible viabilité.

5. Numération - Viabilité des lymphocytes

Numération

Cette opération, permettant d'ajuster la concentration en cellules des diverses suspensions, est faite sur cellule de Malassez au microscope normal, les cellules étant diluées dans du P.B.S., du liquide de Hanks ou du M.E.M.-Hépès-F.C.S. 10 %, et colorées par le Bleu de Méthylène à 25 % en volume de la suspension cellulaire.

Viabilité

Microscope normal : on colore les cellules au Bleu Trypan. Les cellules vivantes sont colorées en clair, les mortes en foncé.

Microscope à contraste de phase : on colore les cellules à l'Eosine. Les cellules vivantes se colorent en orange clair, les mortes en rouge foncé.

Numération et formule chez le porc (chiffres moyens)
(DUBIEZ, 1967 ; SCHALM, O.W., 1965)

Erythrocytes	$6,5.10^6$/ ml
Leucocytes	16.10^3/ ml
Polymorphonucléaires neutrophiles	37 %
Polymorphonucléaires éosinophiles	3,5 %
Polymorphonucléaires basophiles	0,5 %
Lymphocytes	53 %
Monocytes	5 %

D. SERUMS - COMPLEMENT

1. Préparation du complément

Pour le test de cytotoxicité, on utilise le sérum de lapin comme fournisseur de complément. En effet, alors que le complément de porc est totalement inefficace, et celui de cobaye donne des résultats mal reproductibles, le complément de lapin est celui qui, régulièrement, donne le pourcentage de lyse le plus élevé.

Le complément est préparé à partir du sang de 20 à 30 lapins, sacrifiés au printemps ou à l'automne. Les anticorps hétérologues anti-porc éventuels, possédant une activité cytotoxique naturelle contre les lymphocytes du porc, sont éliminés grâce à une absorption sur des hématies (volume à volume) ou sur des cellules spléniques de porc (2.10^7 cellules par ml de sérum) 2 heures à 4°c.

Le complément est conditionné et conservé en paillettes de 0,5 ml dans l'azote liquide à -196°c.

Dans les tests le sérum de lapin est utilisé pur.

2. Obtention - prélèvement - conservation - absorption et élution des sérums

a) Obtention des sérums lymphocytotoxiques

Divers protocoles d'immunisation ont été expérimentés au L.R.A. lors de recherches sur les antigènes de type SD.

Les greffes de peau ont donné de bien meilleurs résultats que les injections intraveineuses de lymphocytes. Les premières ont en effet produit des anticorps d'une meilleure affinité en un temps assez court (VAIMAN, 1974).

Lorsque la greffe de peau s'avérait insuffisante, on associait aux rappels de greffe des injections de leucocytes. Les immunisations opérées pour l'étude des antigènes Ia ont été pratiquées de la même façon. Leur principe sera envisagé dans le détail au chapitre III.

b) Prélèvement et conservation des sérums

On doit procéder au prélèvement des sérums le plus précocement possible, de façon à limiter au maximum leur multispécificité.

En moyenne, on les prélève entre 10 et 20 jours après l'immunisation.

Les sérums sont entreprosés et conservés à -25°c, -30°c, après addition d'Azide de Sodium (NaN_3) à la concentration finale de 1.10^{-4}.

Un échantillon par sérum est stocké dans l'azote liquide, ce qui permet, le cas échéant, de disposer d'un matériel de référence.

Enfin, les sérums utilisés en batteries sont distribués, après dilution adéquate, dans les plaques de Térasaki, conservées

alors à -80°c (cf. test de lymphocytotoxicité).

c) Absorption - Elution

Intérêt

Dans la plupart des cas, l'obtention d'un sérum de polyvalence réduite nécessite une purification par une ou plusieurs absorptions. Lorsque l'activité parasite du sérum peut être rattachée à un antigène connu, on absorbe le sérum sur des cellules possédant cet antigène, à la surface de leur membrane. Lorsqu'il s'agit d'un antigène de groupe érythrocytaire, les cellules absorbantes utilisées sont des hématies ; pour des antigènes d'autres groupes d'histocompatibilité, l'absorption se fait sur plaquettes.

Il est possible de récupérer les anticorps fixés sur les plaquettes en procédant à une élution.

Techniques

. Absorption

Les plaquettes sont conservées depuis 15 jours à 3 mois.

Les hématies sont fraîches.

Avant leur utilisation, les cellules sont remises en suspension et lavées dans du sérum physiologique.

On mélange 2 10^8 plaquettes avec 0,05 ml de sérum dilué, de manière à contenir 4 unités cytotoxiques, soit 4 fois le titre auquel le sérum a été utilisé pour les test. Aucun sérum n'est absorbé pur car le phénomène de zone est fréquent.

Les absorptions sont réalisées à 20° pendant 1 heure (ou à 4° pendant 5 heures), sous agitation continue.

Le surnageant est distribué dans les plaques de Terasaki et conservé à -80°c.

. Elution (technique dérivée de SHULMAN, 1964)

Le culot précédent est lavé avec une solution saline tamponnée, ceci 4 fois.

Entre chaque lavage, on centrifuge 30 minutes à 4 000 g au froid.

Le culot est remis en suspension dans 0,1 ml de sérum physiologique.

On abaisse ensuite le PH à 3 par addition de 0,05 ml HCl 0,1 N.

On agite à température ambiante pendant 10 minutes, puis on neutralise avec 0,05 ml de NaOH 0,1N.

On centrifuge 30 minutes à 4 000 g, puis le surnageant est ajusté à un PH voisin de 7 avec 2-3 µl de NaOH 0,1N (mesures de PH avec papier réactif Merck précision de 0,5 unités PH).

La dilution finale de l'éluat est deux fois celle du sérum absorbé de départ.

E. LE TEST DE LYMPHOCYTOTOXICITE

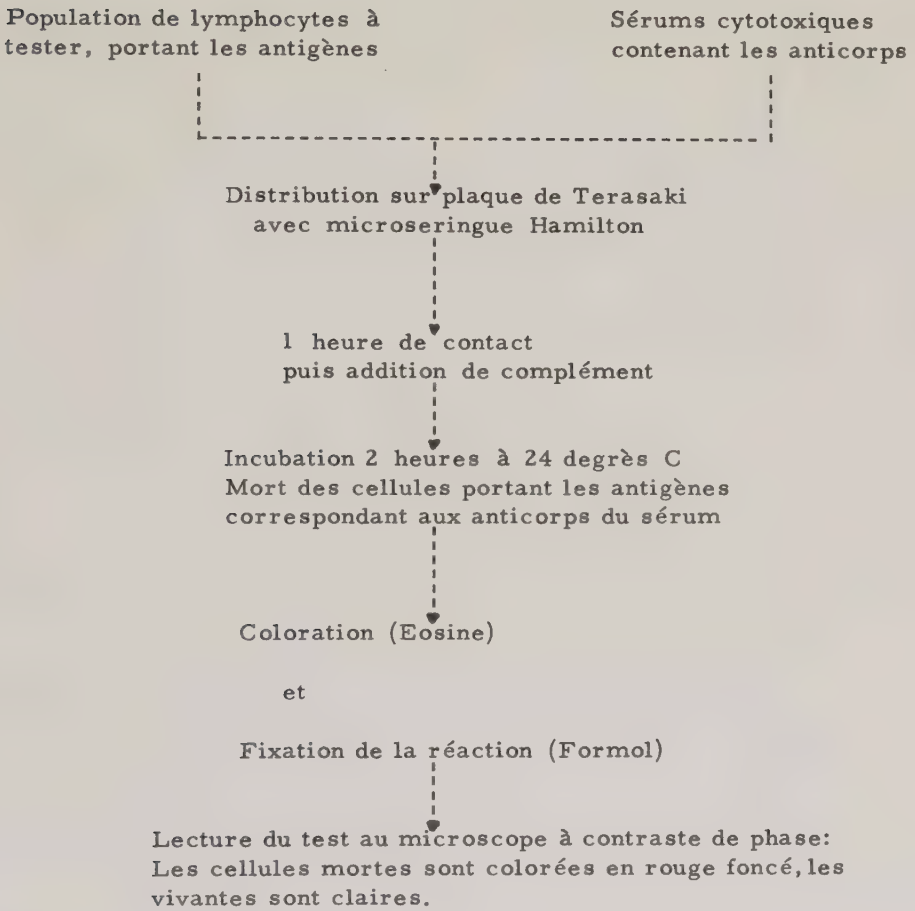
1. Principe du test

La sensibilisation d'un animal aux antigènes tissulaires d'un autre animal, de même espèce (alloimmunisation), histoincompatible, par une allogreffe (en général, une greffe de peau ou/et une injection de lymphocytes allogéniques), entraîne la production, chez le receveur, d'anticorps cytotoxiques détectés par la lyse des cellules du donneur en présence de complément (cf. Figure XXVIII).

2. Technique

Différentes techniques sont utilisées en routine pour le typage des antigènes HLA chez l'homme. Entre toutes, on a préféré au laboratoire la technique décrite ci-après, celle de

FIGURE XXVIII - Principe du test de lymphocytotoxicité.



la lymphocytotoxicité, car la plus satisfaisante du point de vue de la reproductibilité des tests.

Technique standard

N.B. : la technique retenue est dérivée de celle introduite par GORER et O'GORMAN (1956) pour l'étude du système H2 ; on utilise pour cela la microtechnique proposée par TERASAKI (1964) et MITTAL et al. (1968).

Incubation de 1 µl de lymphocytes (environ 1 500 cellules/µl) dans 2 µl de sérum, utilisé à la dilution convenable dans du liquide de Hanks, 30 minutes à 24°c.

Addition de 2 µl de complément pur de lapin ; incubation 120 minutes à 24°c.

Addition de 2 µl d'éosine préparée extemporanément.

Après 5 minutes d'action de ce colorant, on fixe la réaction avec 4-6 µl de la solution de formol.

Les microquantités sont délivrées à l'aide de microseringues Hamilton de 50 et 100 µl dont le piston est actionné par un manipulateur.

Pour les réactions, on utilise les plaques dites de Terasaki, plaques de matière plastique rectangulaires, creusées de petits godets au nombre de 60 et cylindroconiques.

Après addition des lymphocytes et du complément, les plaques sont soumises 5 secondes à l'action d'un appareil agitateur Vortex, assurant ainsi le mélange des différents constituants de la réaction.

N.B. : une étude préalable des conditions de temps optimales pour la sensibilisation, d'une part, et pour l'action du complément, d'autre part, a été faite. Il est apparu que le taux maximal de lyse est atteint le plus souvent après des temps identiques à ceux utilisés pour la lymphocytotoxicité des sérums SD, ceux donnés dans la technique standard.

La lecture des tests se fait au microscope à contraste de phase (ZEISS), les cellules demeurées intactes se colorant en orange, les cellules lysées devenants réfringentes, rouge foncé (cf. photo XXIX).

L'expression des résultats est fondée sur l'estimation du nombre de cellules lysées.

NOTE	REACTION	% DE CELLULES LYSEES
0	-	< 20
1	-	20-40
2	-	40-60
3	-	40-60
4	+	80

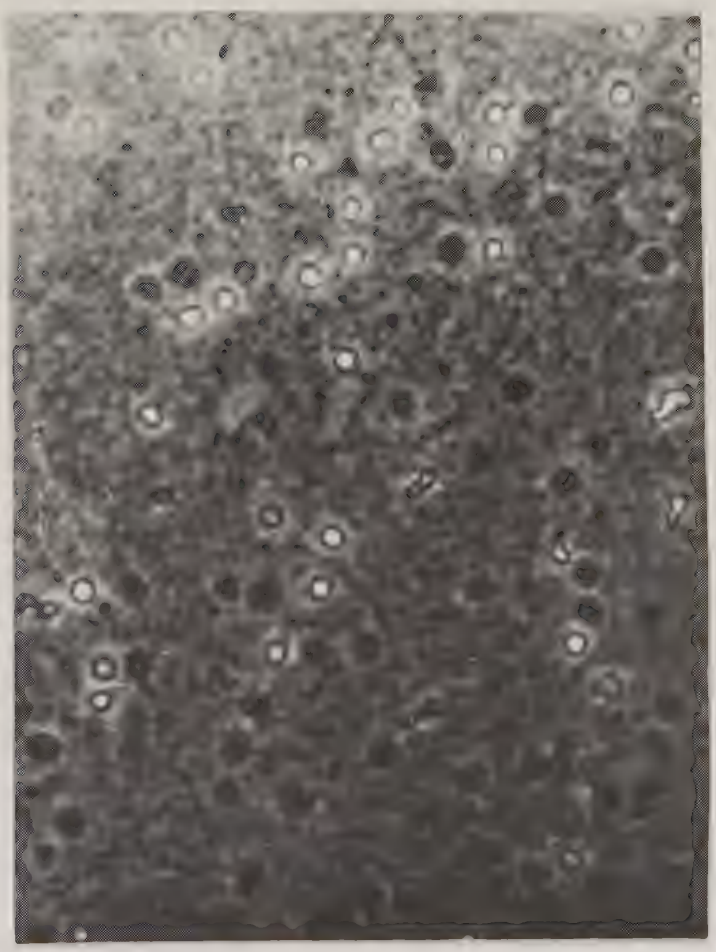
F. SEPARATION DES SOUS-POPULATIONS LYMPHOCYTAIRES

Les sérums cytotoxiques anti-Ia sont testés en série de dilutions par des lymphocytes enrichis en cellules de type B, qui, comme nous l'avons vu, expriment le mieux à leur surface membranaire les caractères Ia. Il convient donc de purifier les suspensions cellulaires et d'en isoler les cellules B, car elles représentent une petite fraction ; pour cela diverses méthodes sont à notre disposition, dont deux non spécifiques, les techniques de la laine de nylon et celle des rosettes, et une spécifique, la technique des anti-immunoglobulines.

Les deux premières techniques décrites ci-dessous sont utilisées successivement sur les mêmes cellules.

Le principe est le suivant : les lymphocytes adhérants sur la laine de nylon sont récupérés et subissent une déplétion en lymphocytes formant des des rosettes avec les hématies de mouton (BACH, 1976).

PHOTO XXIX - Observation du test au microscope à contraste de phase. Les cellules vivantes sont, ici, claires, les mortes noires. Ce test montre un pourcentage de lyse de l'ordre de 50-60%.



Représentation schématique de la purification

Population lymphocytaire de départ = Lymphocytes B, lymphocytes T adhérants au nylon

Lymphocytes T non-adhérants, lymphocytes null

Passage sur NYLON

récupération des B et des T adhérants

élimination des T non-adhérants et des null

ROSETTES MOUTON

Récupération des B (qui ne font pas de rosettes)

Elimination des T-adhérants (qui font des rosettes)

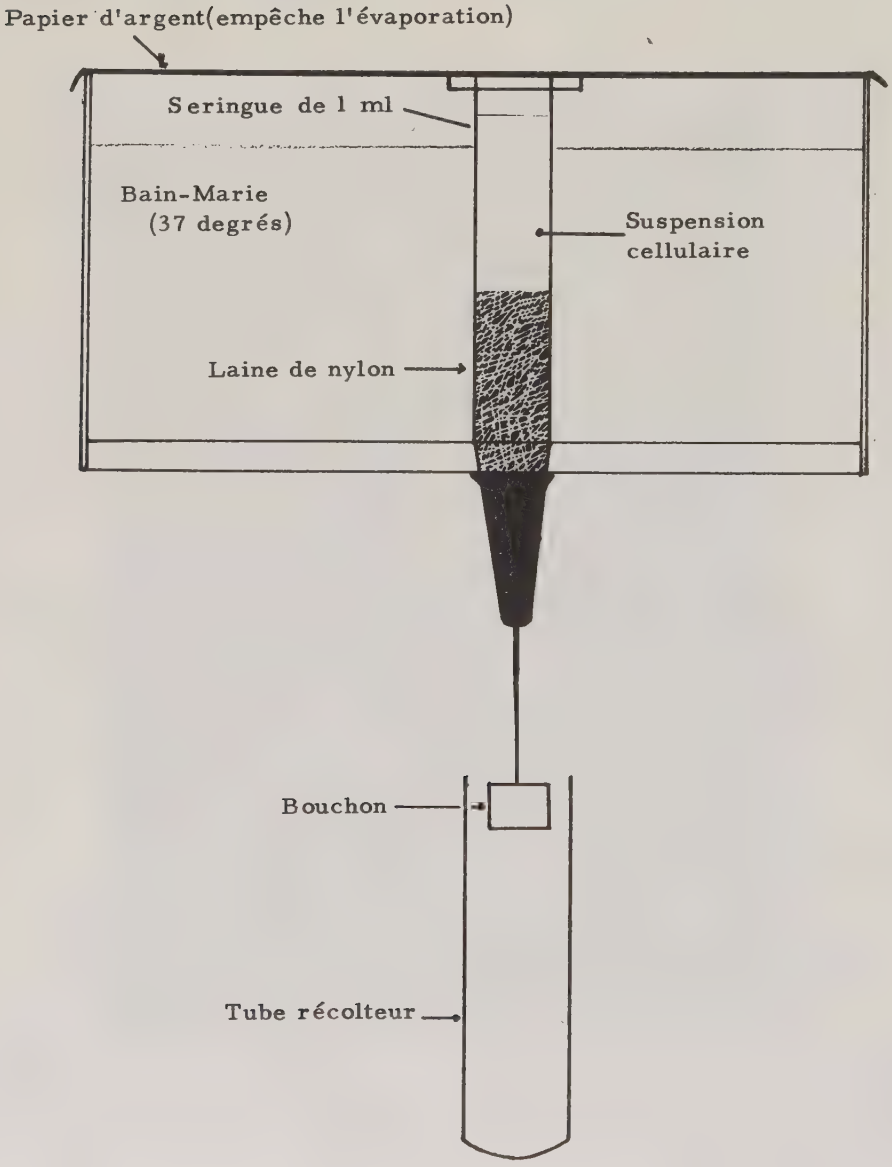
Cette sélection, utilisant les propriétés des récepteurs présents sur les membranes des cellules des différentes sous-populations lymphocytaires, permet d'augmenter le niveau du plateau de lyse des sérums anti Ia. Ainsi, les sérums cytotoxiques pour 30 % des lymphocytes non purifiés lysent 90-100 % des cellules enrichies.

Techniques

1. Préparation des lymphocytes adhérant à la laine de nylon (EISEN, 1972) (cf. Schéma XXX*)

* Le schéma XXX représente le dispositif expérimental utilisé. Les six seringues bouchées dans lesquelles on a disposé la laine de nylon, baignent dans un bac rempli d'eau relié directement à un bain-marie à circulation continue d'eau à 37°c.

SCHEMA XXX - Séparation des sous-populations lymphocytaires: Technique de la laine de nylon:dispositif expéri--mental .



Pour environ 3 10^6 cellules de départ :

On tasse sur 200 µl de volume 10 mg de laine de nylon dans une seringue de 1 ml (type seringue à tuberculine) munie d'une aiguille fine et disposée dans une étuve à 37°c.

La laine ainsi placée est rincée trois fois par 1 ml de MEM-Hépès-FCS 10 %, chauffé au bain-marie à 37°c.

N.B. : FCS = Fetal-Calf-Serum (sérum de veau foetal).

On élimine les bulles d'air éventuelles, on bouche la seringue et on laisse la laine s'imbiber à cette température pendant 60 mn.

Puis on vide les seringues en laissant s'écouler le liquide sans pression et en régularisant le débit en tassant ou détassant le nylon.

On ajoute 100 µl de lymphocytes, que l'on laisse pénétrer la laine. On rajoute 50 µl de milieu (à 37°c) pour rincer et on ferme la seringue.

On laisse incuber à 37°c pendant 40 mn, puis on laisse couler après avoir ajouté 1 ml de milieu à 37°c.

On ferme et on ajoute 1 ml de milieu, puis on met le piston. On ouvre alors et on fait aller et venir le milieu dans la seringue une dizaine de fois pour décrocher les cellules adhérantes au nylon. Les cellules en suspension sont alors récupérées dans un tube à essai, puis lavées et centrifugées pour leur utilisation dans les tests.

2. Préparation des lymphocytes B par les rosettes-mouton (PARISH, 1975)

Préparation des hématies de mouton :

On lave trois fois le sang total de mouton récupéré sur tube hépariné, dans du sérum physiologique (à chaque fois on lave au sérum phy, on centrifuge à plus de 1 000 g, puis on élimine le surnageant contenant sérum, thrombocytes et leucocytes).

Les hématies sont remises en suspension dans une solution de Dextran à 0,5 % de globules rouges (5 µl de culot de G.R. pour 1 ml de solution).

Solution de Dextran : Dextran (100 000-200 000) à 6 % dans du sérum physiologique : 50 % en vol.
P.B.S. ..... : 50 % en vol.

Les lymphocytes récupérés après décrochage de la laine de nylon sont repris dans un mélange :

P.B.S. ..... 40 % en vol.
F.C.S. ..... 60 % en vol.

La concentration finale des cellules est de 2.10^6/ml.

On mélange volume à volume hématies et lymphocytes, et on laisse incuber 5 minutes au bain-marie à 37°c (l'augmentation de température favorise la formation des rosettes).

On centrifuge 5 minutes à 200 g pour clarifier le surnageant et rassembler les cellules.

On laisse incuber ainsi 60 minutes à 24°c (formation des rosettes).

Le culot est ensuite remis en suspension et celle-ci déposée sur Ficoll. On centrifuge et on récupère l'interface qui contient les lymphocytes n'ayant pas fait de rosettes, les hématies ayant entraîné les lymphocytes faisant rosette au fond du tube.

Deux manipulations de mise au point de la technique ont été faites et sont résumées ci-après.

Légende : LR = lymphocytes ne formant pas de rosettes
LN = lymphocytes adhérents à la laine de nylon
LNR= lymphocytes adhérents à la laine de nylon et ne formant pas de rosettes.

Première manipulation : étude du pourcentage de rosettes mouton et de LR agglutinés en fonction du temps d'incubation du dextran.

- Dilutions étudiées : 1/2 . 1/4 . 1/8
- Temps étudiés : 15, 30, 45 et 60 mn
- Résultats : le pourcentage d'agglomérats ne varie pas avec ces deux facteurs, le meilleur pourcentage de rosettes est obtenu avec un temps d'incubation de 60 mn et une dilution du dextran de 1/2.

Deuxième manipulation : étude de la reproductibilité des tests sur les lymphocytes totaux, les LR, les LN, les LNR (porcs 4240 : 1.13.3-12/ 2.11-15 et 4259 : 1.13.5-3/17-17.

Résultats : d'une façon générale, il apparaît que les anomalies sont moins fréquentes sur les LR que sur les autres (ce qui peut s'expliquer par un nombre moindre de manipulations).

La moyenne des différences de lyse entre les LN et les LR est de 7 % pour un porc et de 9 % pour l'autre, les LN étant toujours plus lysés que les LR.

La différence de lyse entre les LNR d'une part et les LR et les LN d'autre part est significative, de 20 à 30 % lors de positivité du test.

3. Préparation des lymphocytes B par la technique des anti-Ig (WYSOCKI and V.L. SATO, 1978)

Principe :

On utilise dans cette technique la double propriété des immunoglobulines de se fixer à la fois sur le polystyrène et les antigènes, et d'autre part celle des lymphocytes B d'être seuls, parmi les lymphocytes circulants, à posséder des immunoglobulines de surface. Dans une boîte plastique, type boîte de Petri, on dépose un sérum de Lapin anti-immunoglobulines de Porc, puis la population de cellules. Les immunoglobu-

lines du sérum vont se fixer d'une part au pastique et d'autre part s'absorber sur les immunoglobulines de surface des lymphocytes B par une simple réaction antigène-anticorps, les lymphocytes T et autres restant en suspension (cf. Schéma XXXI).

Technique :

- Immunoglobulines :
  1) Immunoglobulines de lapin préparées par immunoabsorption ;
  2) Sérum anti-immunoglobulines de porc obtenu sur lapin.

Ces deux "solutions" sont diluées dans du TRIS 0,0R M (PM 9,5) à 1,2 mg/1 ml. On mélange les deux à raison de 10 % d'Ig pour 90 % d'anti-Ig, en solution stérile conservée à + 4°c (ceci pour diluer les anticorps anti-Ig dans une solution protéique).

- Plaques :

. Flacon de 30 mm de diamètre.

Manipulation :

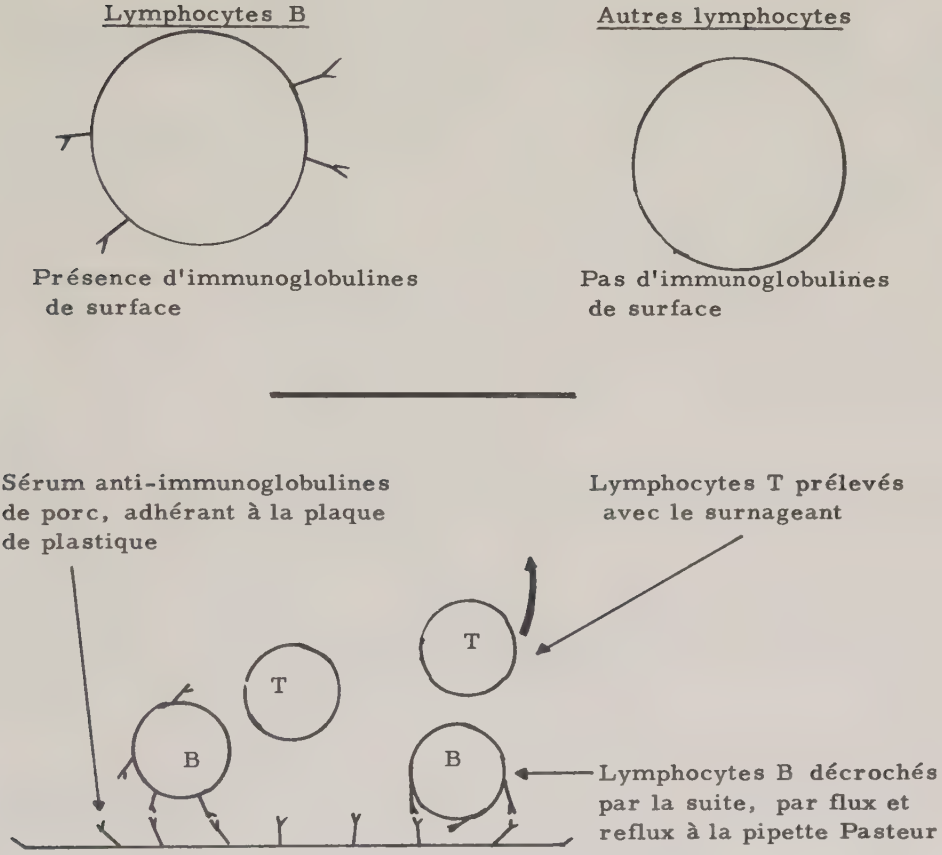
. On dépose le mélange dans la plaque à raison de 0,9 ml par plaque, puis on laisse incuber 40 mn à 20°c. Le surnageant est éliminé à la pipette Pasteur, puis on lave quatre fois avec 1 ml de PBS, puis 1 fois au PBS-FCS 1 % pendant la préparation des lymphocytes.

. Adhésion des lymphocytes. On dépose dans le plastique 0,9 ml de suspension à 3.10^6 cellules par ml de PBS-FCS 5 % que l'on laisse incuber à 4°c pendant 30 mn. On élimine ensuite le surnageant à la pipette Pasteur (suspension de lymphocytes T), puis on lave la plaque cinq fois avec 1 ml de PBS-FCS 1 %. Les lymphocytes B sont récupérés par un flux et un reflux de 2 ml de PBS-FCS 1 % à la pipette Pasteur.

G. REACTION LYMPHOCYTAIRE MIXTE

Principe :

SCHEMA XXXI - Principe de la préparation des lymphocytes B par la technique des anti-immunoglobulines:



Lorsque deux populations lymphocytaires, provenant de deux individus différents pour le C.M.H., sans immunisation préalable, sont mélangées en culture, chacune d'elles va développer une réponse allogénique contre l'autre (BAIN et al., 1964 ; BACH et HIRSCHORN, 1964), caractérisée au début par une prolifération lymphocytaire. C'est un phénomène qui est connu sous le terme de culture mixte de lymphocytes ou réaction lymphocytaire mixte, notée M.L.R. (Mixed-Lymphocyte-Reaction) (cf. Schéma XXXII).

Technique (cf. Schéma VIII) :

La technique consiste à cultiver ensemble des lymphocytes de deux individus dans un milieu nutritif convenable et stérile (en général du liquide de culture Mac-Coy).

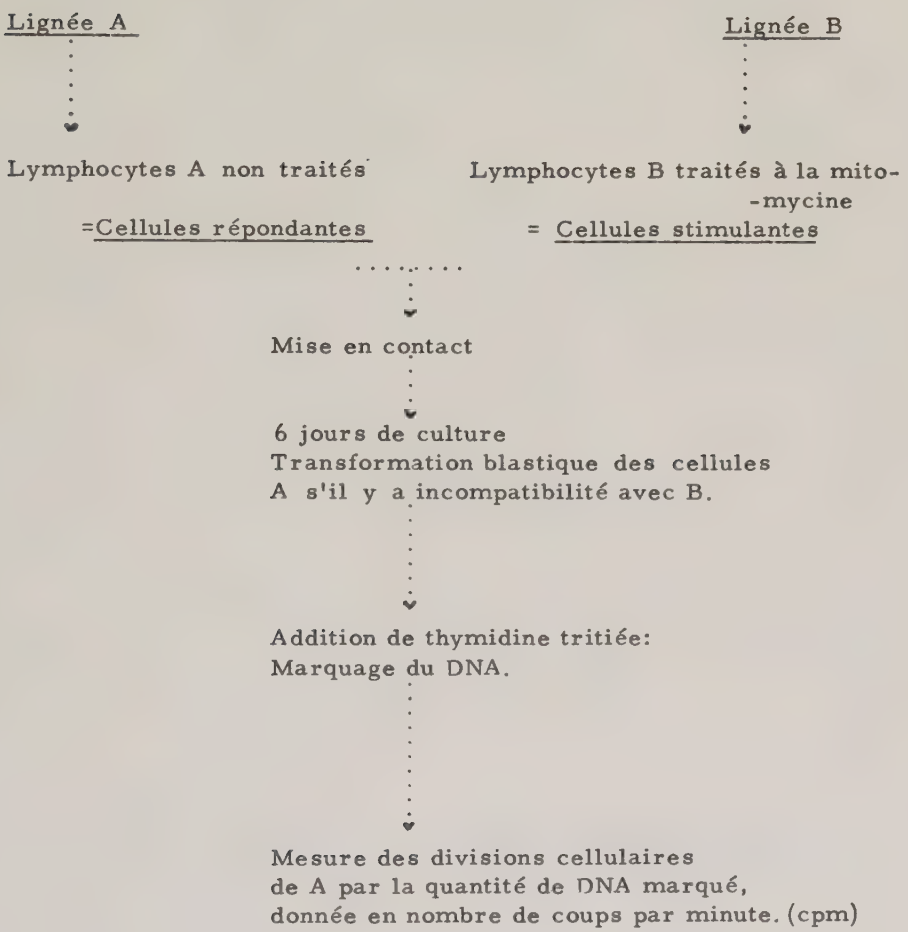
La réaction est, dans le cas général, bidirectionnelle, chacune des deux populations étant à la fois répondante et stimulante. La réaction peut être rendue unidirectionnelle, en bloquant la capacité de prolifération d'une des deux populations par irradiation ionisante (Rayonnement X, 1 200 Roentgens) ou par traitement à la mitomycine, les cellules traitées conservant, dans les deux cas, leur capacité de stimulation. La prolifération correspond à l'apparition de cellules blastiques (SCHREK et DONNELY, 1961) plus volumineuses que les lymphocytes. Au point de vue cinétique, le nombre de cellules augmente pour atteindre un maximum vers le 5ème-6ème jour de culture (cf. Schéma XXXIII).

On peut alors mesurer quantitativement l'intensité de la réaction par l'incorporation de thymidine tritiée dans le DNA des cellules en division. On utilise pour cela un carbotrimètre, appareil de comptage des rayonnements β mou.

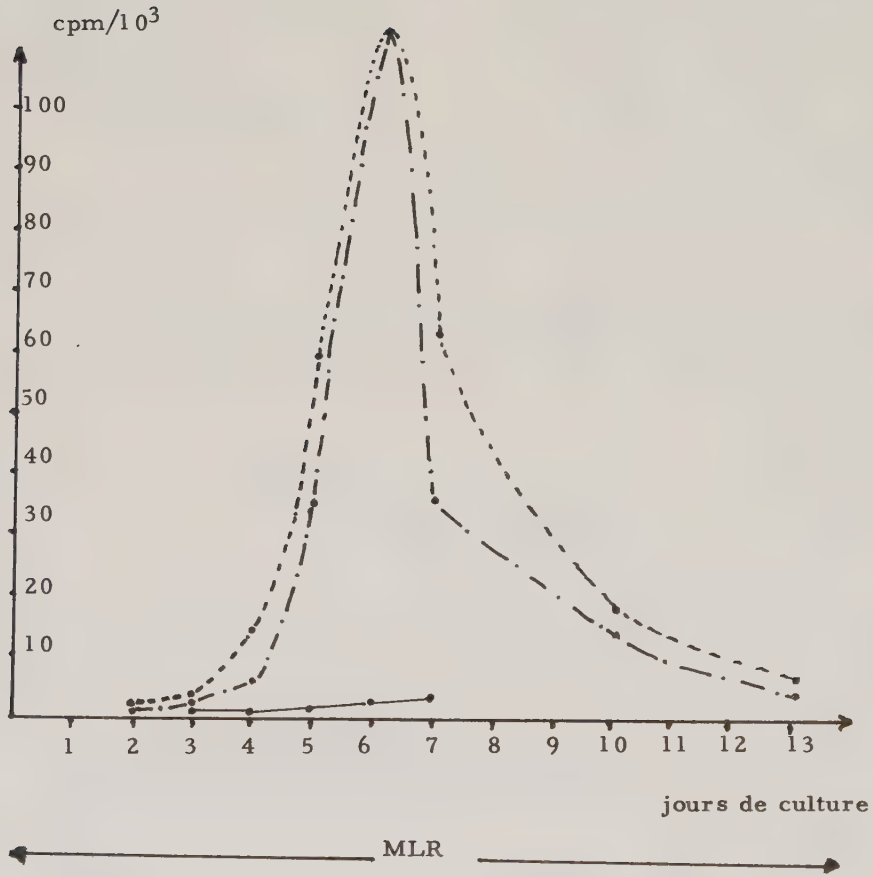
H. PRINCIPE DU TYPAGE DES FAMILLES

Les données actuelles sur les sérums, la culture mixte et sur l'immunogénétique du C.M.H. permettent de typer les familles de porcs (verrats, truies, porcelets).

SCHEMA XXXII - Culture mixte de lymphocytes : principe d'une culture unidirectionnelle - D'après CHRISTEN. 1975.



SCHEMA XXXIII - Cinétique de la prolifération lymphocytaire en MLR . D'après FRADELIZI, 1978.



1. Typage sérologique

La batterie actuelle de sérums dont dispose le laboratoire permet de mettre en évidence un certain nombre de caractères appartenant tous à la même région chromosomique (caractères codominants, non liés au sexe). Il ségrègent selon la première loi de Mendel, comme le représente la figure XXXIV. Ce schéma est applicable lorsque les deux parents sont hétérozygotes et différents. La ségrégation au hasard des allèles parentaux aboutit aux quatre combinaisons attendues dans le cas d'un locus unique ou d'un groupe de gènes liés. Le tableau XXXV montre les résultats des tests de lymphocytotoxicité observés avec ce type de familles. Chaque haplotype est reconnu par un ou plusieurs sérums cytotoxiques appartenant à un même groupe. Les deux premiers groupes d'antisérums positifs avec le verrat seul s'excluent mutuellement dans la descendance. Les deux groupes suivants réalisent également le test de back-cross négatif mais à partir des caractères de la truie.

Les porcelets, quant à eux, se classent en quatre catégories génotypiques. Chacun d'eux réagit sérologiquement comme s'il était la combinaison au hasard d'un caractère paternel et d'un caractère maternel (VAIMAN, 1974).

2. Typage en culture mixte (cf. tableau XXXVI)

La technique de la culture mixte a été introduite au laboratoire à un moment où le typage sérologique des fratries pour le système SLA était déjà couramment pratiqué. Les résultats de la RLM se révélèrent en parfait accord avec les résultats fournis par la sérologie (VAIMAN, 1978). Les frères identiques pour SLA ne se stimulent pas, alors que dans les cultures de frères différents par un ou deux haplotypes, la stimulation est de règle. Il en résulte que les cultures mixtes réalisées entre des frères dans toutes les combinaisons possibles fournissent le même classement que la sérologie. Un exemple de résultat de RLM entre six frères sur les douze que comptait la famille F 140 est

FIGURE XXXIV - Ségrégation des caractères parentaux dans le cas d'un système génétique à un seul locus :

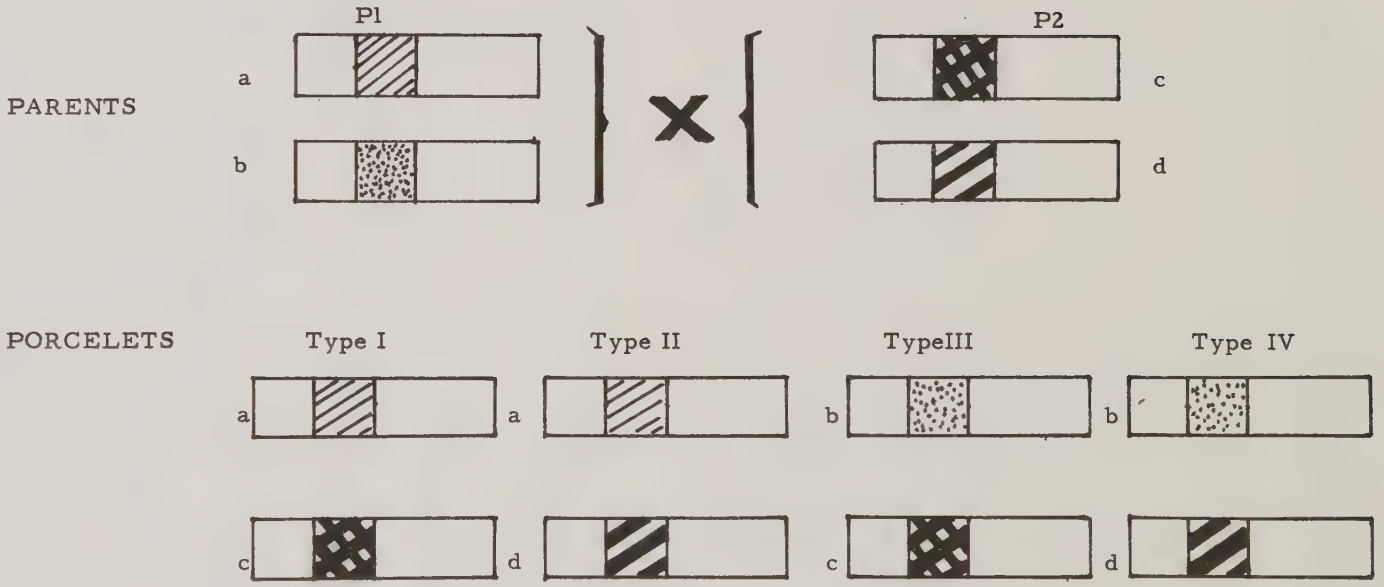


TABLEAU XXXV - Typage d'une famille de porcs (D'après VAIMAN. 1974.)

S. : Spécificités déterminées par les groupes de sérums.

Sérums cytotoxiques	Verrat	Truie	Porcelets de deux portées successives																					S.
			3978	3988	3998	4008	4018	4028	4038	4058	4068	448	458	468	478	488	498	508	518	538	548	558	578	
53-57-59-2958-4058	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	A
2928-2978 3998	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	B
40-56-58-3008-3018	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	C
39	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	D
3038-4008	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	AC
36-42-44-3028-3978	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	BD
41-2938	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	BC
4018	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	AD
GENOTYPE	AB	CD	AC	BD	AD	BD	BC	AD	AC	BC	AD	AC	AC	AC	BD	BC	AD	AC	BC	BC	AC	BC	AD	

TABLEAU XXXVI - Résultats de la RLM entre six porcelets d'une même portée : (D'après VAIMAN , 1978.)

CELLULES REPONDANTES

CELLULES STIMULANTES	1211	1212	1213	1215	1217	1218
1211 +		126	0,65	132a 113	16,10	29,5
1212	π 106		121	1,02		
1213	1,77	120		173		
1215	101a 121,5	4,08	113		40,75	123,9
1217	19,80			15,9		95,8
1218	22,8			15,81	127,6	

+ Cellules traitées à la mitomycine
a Résultats doublés
π Index de stimulation

- Dans cette famille, un haplotype de chacun des parents a été identifié : SLA-4 / _ et SLA-2 / _.
- L'haplotype A est SLA-4, l'haplotype C est SLA-2.
- Les haplotypes B et D ont été déduits. La comparaison des résultats selon les deux techniques est représentée ci-dessous.

CLASSEMENT SEROLOGIQUE				Les résultats de la RLM déduits du TABLEAUXXVI donnent la répartition suivante:		
AC	AD	BC	BD			
1214	1211	1212	1218	1217	1211	1212 1218
1217	1213	1215	1221		1213	1215
1220		1216 1219 1222				

présenté dans le tableau XXXVI. Les classements obtenus pour ces animaux en sérologie et en RLM sont identiques.

La sérologie permet de préciser que l'index élevé correspond à des couples incompatibles pour deux haplotypes et l'index faible à des couples haplo-identiques (un haplotype commun). Dans ce cas précis, en plus de répartition des porcelets en quatre classes, on peut proposer un classement génotypique. Si on attribue, par exemple, le génotype AD au coupe 1 211 - 1 213, on doit admettre que les frères 1 212, 1 215 sont BC, la stimulation étant forte dans toutes les combinaisons entre ces deux catégories. La réaction importante entre 1 217 et 1 218 suggère aussi une double incompatibilité. Le porc 1 217 sera, par exemple, AC et 1 218 BD. Les réactions modérées respectives de ceux-ci avec les frères des deux premières catégories (sauf une fois pour le porc 1 218) sont en accord avec une haploidentité dans ces cultures.

Cette fratrie représente un cas favorable, car il est souvent difficile d'établir une corrélation entre le degré de stimulation et le nombre d'incompatibilités génotypiques, du moins d'après l'expérience acquise chez le porc.

Il est possible que le fait de se limiter à une seule durée de culture et à un rapport fixe entre les cellules stimulantes et répondantes affaiblisse la sélectivité du test (ALBERTINI, 1968).

Néanmoins, pour des raisons pratiques, on a dû se limiter à une durée et à une concentration uniques, tout au moins en ce qui concerne les tests de routine.

I. L'ANALYSE SEROLOGIQUE

Plusieurs techniques permettent d'analyser les sérums cytotoxiques et de définir les spécificités antigéniques appartenant au systèle SLA.

1. Les sérums sont titrés par les lymphocytes des porcelets appartenant à la fratrie de l'immuniseur. On détermine ainsi la dilution d'utilisation du sérum dans les test de cytotoxicité. On peut observer et éliminer éventuellement par absorption la présence d'anticorps qui reconnaîtraient une spécificité n'appartenant pas au système SLA et qui ne suivraient donc pas l'haplotype. C'est le cas notamment d'anticorps reconnaissant les groupes sanguins qui apparaissent parfois dans les sérums au cours des immunisations. Ils sont éliminés par absorption sur hématies.

2. Les sérums sont ensuite testés sur un panel de lymphocytes d'un nombre élevé de porcs non apparentés appartenant à différences races. Un test statistique dérivé du tableau de contingence 2 x 2 permet de comparer les alloantisérums entre eux (cf. Tableau XXXVII). Les critères de définition des spécificités antigéniques sont ceux utilisés dans les autres espèces. Le calcul du coefficient de corrélation, du Khi-2 d'indépendance, et éventuellement de Khi-2 d'allélisme, donne une première indication sur les spécificités reconnues par les différents sérums. Ainsi, plusieurs sérums peuvent reconnaître la même spécificité s'ils ont un coefficient de corrélation élevé ($> 0,7$) et un Khi-2 d'indépendance $\geq 3,84$ ($p < 0,05$). Ils peuvent reconnaître des spécificités alléliques ou pseudo-alléliques si leur coefficient de corrélation est négatif, le Khi-2 d'indépendance $\geq 3,84$ et le Khi-2 d'allélisme $< 3,84$ (FEINGOLD, 1966).

3. Les sérums sont ensuite titrés par des lymphocytes de porcelets appartenant à des fratries d'origines différentes, déjà typées en sérologie et en MLC. On profite de l'hétérogénéité de la population étudiée pour mettre en évidence éventuellement des anticorps réagissant contre des spécificités masquées par la présence d'une population d'anticorps dirigés contre l'antigène majeur.

TABLEAU XXXVII - Données théoriques du test statistique dérivé du tableau de contingence 2 X 2, permettant la comparaison des sérums 2 à 2.

- CHI-2 $<$ 3,84 ..... Sérums indépendants
- CHI-2 $>$ 3,84 ..... Sérums liés
  - C. C. $>$ 0
    - C. C. $>$ 0,9 ... Sérums identiques ou reconnaissant des spécificités différentes mais en déséquilibre de linkage.
    - C. C. $>$ 0,7 ... Sérums pouvant reconnaitre une même spécificité ou deux spécificités en déséquilibre de linkage.
    - C. C. $>$ 0,4 ... Sérums, soit polyvalents, soit sur des loci différents.
  - C. C. $<$ 0 et CHI-2$_a$ $<$ 3,84 ... Sérums reconnaissant des spécificités allèles.

C. C. : coefficient de corrélation.
CHI-2$_a$: CHI-2 d'allèlisme.

4. Les sérums les plus spécifiques sont étudiés par absorption et élution dans le but d'analyser les sous-populations d'anticorps contenus dans ces sérums. Afin de savoir si les réactions positives avec un porc 1 mettent en jeu le même type d'anticorps qu'un porc 2, le sérum est mis en contact avec des extraits membranaires ou des plaquettes provenant des porcs 1 et 2. Les anticorps résiduels sont testés ensuite par les lymphocytes de ces porcs et de porcs identiques. Les anticorps fixés sur le matériel absorbant peuvent être élués par acidification et testés en cytotoxicité par les mêmes lymphocytes (cf. Tableau XXXVIII).

TABLEAU XXXVIII - Etude des sérums par absorption.

(D'après VAIMAN, 1974.)

Caractères sérologiques des porcs donneurs de plaquettes	Nombre de plaquettes différentes	Activité résiduelle des sérums après absorption, testée sur les cellules des immuniseurs respectifs.		
		511	814	315
SLA 1	30	-(1)[b]	-(3)	4[a]
SLA 1 /SLA 2	15	-	-	1
SLA 1 /SLA 3	3	-	-	2
SLA 1 /SLA 4	7	-	-	1
SLA 1 /SLA 5	3	-	-	-
(c)	10	+	+	+
SLA2	2	+	+	+
SLA3	1	+	+	+
SLA4	2	+	+	+

- a : nombre d'absorptions non efficaces.
- b : activité résiduelle décelée par lyse de cellules de l'ordre de 50 à 60%.
- c : cellules ne possédant pas de caractères reconnus par des sérums spécifiques.

ANNEXE

MILIEUX UTILISES LORS DE DIVERSES MANIPULATIONS

1. P.B.S. (Phosphate-Buffered-Saline) :

Composition :

- $NaCl$ ..... 8 g
- KCl ..... 0,2 g
- Na_2HPO_4 , 12 H_2O ..... 3,63 g
- KH_2PO_4 ..... 0,2 g

à diluer dans 800 ml d'eau distillée

- $MgCl_2$, 6 H_2O ..... 0,1 g

à diluer dans 100 ml d'eau distillée
les deux solutions sont alors mélangées

- $CaCl_2$ ..... 0,1 g

à diluer dans 100 ml d'eau distillée

Cette dernière solution est ajoutée goutte à goutte à la première. Le goutte à goutte est nécessaire si l'on veut éviter tout phénomène de précipitation.

2. HANKS :

La solution de Hanks est une solution isotonique tamponnée. Nous avons utilisé pour nos expériences la solution prête à l'emploi fournie par les laboratoires d'Institut-Pasteur-Production, dont la formulation est la suivante :

- $NaCl$ ..... 8 000 mg/l
- KCl ..... 400 mg/l
- Na_2HPO_4 , 7 H_2O ..... 60 mg/l

- $MgSO_4$, 7 H_2O ..... 100 mg/l
- KH_2PO_4 ..... 60 mg/l
- Glucose ..... 1 000 mg/l
- $CaCl_2$ ..... 140 mg/l
- $NaHCO_3$ ..... 350 mg/l
- $MgCl_2$, 6 H_2O ..... 100 mg/l

3. HANKS HYPERTONIQUE :

Le Hanks hypertonique est utilisé lors de la coloration des cellules à l'éosine pour contrecarrer l'hypotonicité de ce produit.

Composition : - Hanks isotonique
- Nacl : 2,55 g pour 100 ml

4. EOSINE :

L'éosine, colorant vital, est utilisé à la dilution de 5 % dans l'eau distillée.

5. FORMOL :

Le formol, utilisé comme fixateur des réactions de lyse cellulaire, est neutralisé au préalable par 5 % d'une solution 0,15 M de Na_2HPO_4.

6. FICOLL-TRIOSIL :

Destiné à créer un gradient de densité, lors de la centrifugation du sang total, pour prélever de celui-ci la partie lymphocytaire, le Ficoll-Triosil est utilisé avec la compositon suivante :

- Triosil (Pharmacia. PM = 400 000) ..... 40 ml à 34 %
  (soit : Métrizoate à 75 % ..... 20 ml
  H_2O ..... 24,8 ml)
- Ficoll (Nygaard & Co., Oslo) ..... 96 ml à 9 g pour 100 ml d'eau
- La densité finale obtenue est de 1,077.

7. MEM-HEPES :

- Solution mère MEM ..... 10 ml
- Hépès ..... 0,596 g
- Eau ..... q.s.p 100 ml

On neutralise la solution obtenue par de la lessive de soude. Quelques micro-litres suffisent pour l'obtention d'un PH égal à 7,2.

Le tout est filtré stérilement et conservé à - 20°c.

Chapitre III

ETUDE EXPERIMENTALE DES ANTIGENES Ia DU PORC PAR LE TEST DE LYMPHOCYTOTOXICITE

Ce n'est que très récemment, et en premier lieu chez la souris, que les antigènes Ia ont été mis en évidence (GOTZE, 1973).

Parmi les quatre régions alors individualisées (K, I, S et D), il est apparu que seuls les produits de trois d'entre elles (K, S et D) étaient connus. Par contre, les produits de la région I restaient inconnus, les gènes Ir n'étant définis que par leur manifestation phénotypique dans la réponse immunitaire humorale.

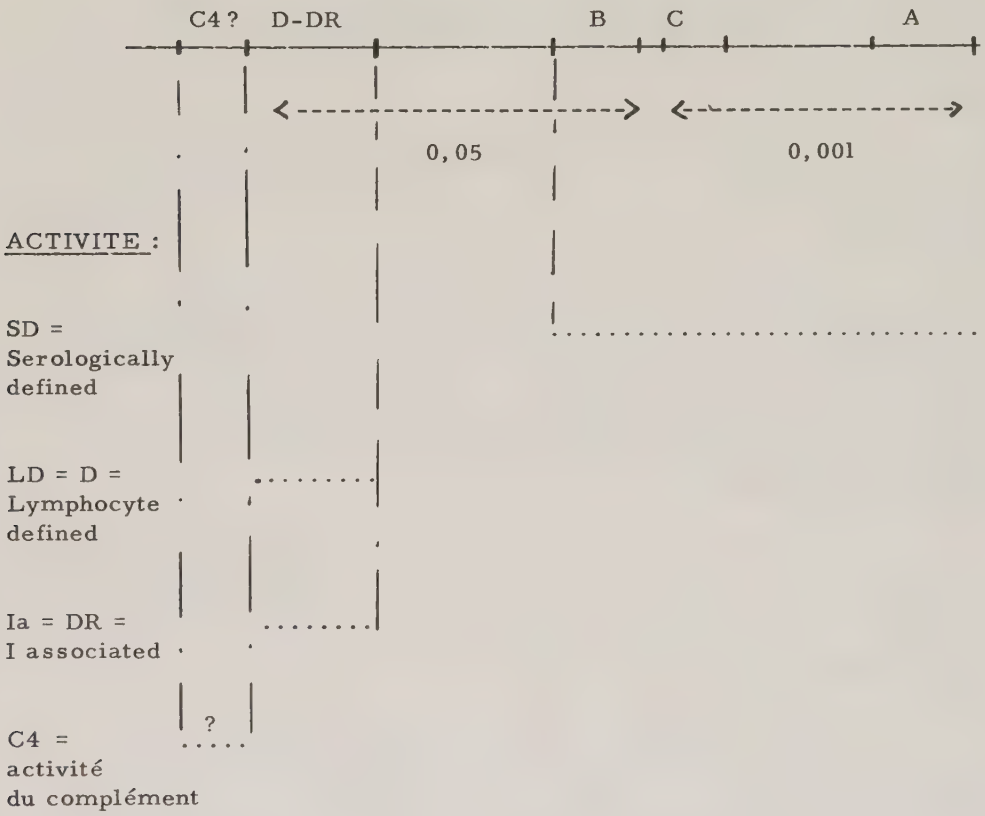
Par ailleurs, les travaux de BACH (1972) et MEO (1973) avaient montré que les déterminants LD (MLR) placés auparavant à l'extrémité K du complexe H-2 (RYCHLIKOVA, 1970) se localisent en fait dans la région I.

L'étude de lignées recombinantes à l'intérieur de cette région (identiques pour le complexe H-2 classique, et différentes en MLR) a permis de mettre en évidence par la sérologie (LCT) les antigènes Ia (I-associated ou associés à I). C'est ainsi que des alloimmunisations ont pu être réalisées, produisant des sérums spécifiquement dirigés contre les structures Ia dont la distribution tissulaire est alors apparue restreinte à certaines populations de cellules seulement (lymphocytes B, notamment) (COLOMBANI, 1975-1976).

LA REGION ANALOGUE AU Ia MURIN CHEZ LE PORC (Schéma XXXIX)

Les recherches consacrées à l'histocompatibilité dans cette espèce étaient pratiquement inexistantes jusqu'à ces dix dernières années. C'est en 1968-1969 que VAIMAN et al. ont

SCHEMA XXXIX - Organisation génétique du compexe majeur d'histo-compatibilité (SLA) du porc.



entrepris l'étude des antigènes de transplantation dans l'espèce porcine (VAIMAN et al., 1970). Ces travaux, augmentés de ceux réalisés par la suite par plusieurs laboratoires de France et de l'étranger, ont abouti à une somme de connaissances importante, détaillée au chapitre I et résumée ici dans le schéma XXXIX.

Depuis, plusieurs séries de travaux ont permis de mettre en évidence une région analogue au Ia murin chez le porc (VAIMAN, 1974 et 1975 ; SACHS, 1976 ; LUNNEY et SACHS, 1978 ; LUNNEY et SACHS, 1979, VAIMAN, 1978), dénommée DR.

C'est dans le cadre de ces travaux de recherche sur la région du C.M.H. du porc, analogue de la région Ia de la souris, que s'est située notre expérimentation.

L'objet de notre travail a été de tester en lymphocytotoxicité la batterie de sérums, dirigés contre cette région, avec un panel de cellules de porcs non-apparentés.

Le chapitre III, consacré à notre expérimentation proprement dite au L.R.A., se composera de trois parties. La première en envisagera les bases théoriques, la seconde, l'exposé des résultats obtenus, et la troisième sera l'objet d'une discussion et des conclusions que l'on peut tirer de ces résultats.

A. BASES THEORIQUES DE L'EXPERIMENTATION

Mise en évidence de la région D-DR

D-DR signifie : D (région D) - D related

MLC Ia-équivalent

La région est ainsi nommée par analogie avec le complexe HLA de l'homme.

1. Notion de recombinant

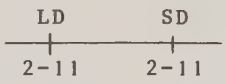
Lors du typage des familles, en sérologie d'une part et en culture mixte d'autre part, on a pu observer, comme dans les autres espèces, des recombinaisons entre la région SD et la région LD. Ces recombinaisons, qui surviennent avec une fréquence d'environ 1 % dans les familles, se traduisent, pour les porcs recombinés, par des réactions divergentes en sérologie et en culture mixte. L'exemple que nous avons choisi, celui de la famille 218, montre ce type de recombinaison. Cette famille est exceptionnelle, dans la mesure où il existe deux recombinants.

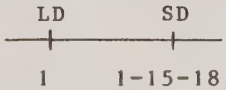
N.B. : La nomenclature concernant les haplotypes est précisées au tableau XL.

Exemple de la famille 218

a) Résultats du typage sérologique
(Tableaux XLI et XLII)
Haplotypes des parents :

Verrat :





Truie :

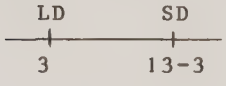


TABLEAU XL - Nomenclature des gènes SD, LD et Ia:

-SD: Les spécificités SD sont notées de 1 à 22. (22 spécificités identifiées jusqu'à présent. Dans la mesure où il existe trois séries allèliques, et où l'on n'est pas en mesure, actuellement, de définir pour chaque haplotype ces trois spécificités, on les notera, suivant les cas, par 1, 2 ou 3 numéros. Exemple: SD 1-15-18
SD 2-11
SD 17.

-LD: Actuellement 9 allèles LD ont été obtenus, spontanément ou par croisements dirigés. Ils correspondent à 9 cellules test homozygo--tes distinctes. On indique la relation existant entre ces 9 allèles et les homozygotes SLA d'origine:

LD1	:	1-15-18
LD2	:	10-14
LD3	:	1-13-3
LD4	:	12
LD5	:	Corse à SD?
LD6	:	1-15-18
LD7	:	13-22
LD8	:	2'-4-5
LD9	:	2-20

Il existe, aussi, une notation pour les allèles de la région D, qui va au-delà de 9. Celà correspond à des spécificités pour lesquelles nous n'avons pas de cellules homozygotes test. Le numéro est alors celui de l'un des antigènes SD contrôlés par cet haplotype.
Exemple : LD 2-11.

-Ia: Les Ia (région DR) se déterminent pour l'instant uniquement en fonc--tion de la région D (LD). Nous suivrons donc , pour ceux-ci, la no--menclature LD.

TABLEAU XLI - Sérums utilisés pour le typage et haplotypes reconnus.

SERUMS	HAPLOTYPES RECONNUS	DENOMINATION SYMBOLIQUE DE L'HAPLOTYPE
51-814-868-1060	1-15-18	A
565-1620-1103	2-11	B
1059-77-3978	13-3	C
884-1370	17	D
2978-44	1-15-18/13-3	AC
1528-1307	2-11/17	BD
792-1031-1532	2-11/13-3	BC
1047-1455	1-15-18/17	AD

TABLEAU XLII - Résultats du typage sérologique de la famille 218 :

Sérums	Verrat	Truie	Porcelets								Spécificités déterminées par les grou--pes de sérums
			1735	1736	1737	1738	1739	1740	1741	1742	
51-814 868-1060	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	A
565-1620 1103	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	B
1059-77 3978	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	C
884-1370	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	D
2978-44	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	AC
1528- -1307	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	BD
792-1031 1532	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	BC
1047- 1455	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	AD
Génotype	AB	CD	BC	BD	BD	AC	AD	AC	AD	BC	

b) Résultats du typage en culture mixte
(Tableau XLIII)

Les porcs ne se stimulant pas entre eux, mais stimulant tous les autres, donc stimulés par ceux-ci, appartiennent à un même groupe, et sont identiques pour la région D (LD).

Ainsi, 35 et 42 forment un groupe, 37 et 40 constituant à eux-seuls deux groupes respectifs.

Si l'on néglige les réactions faibles, on peut considérer que 36, 38, 39 et 41 forment, eux aussi, un groupe.

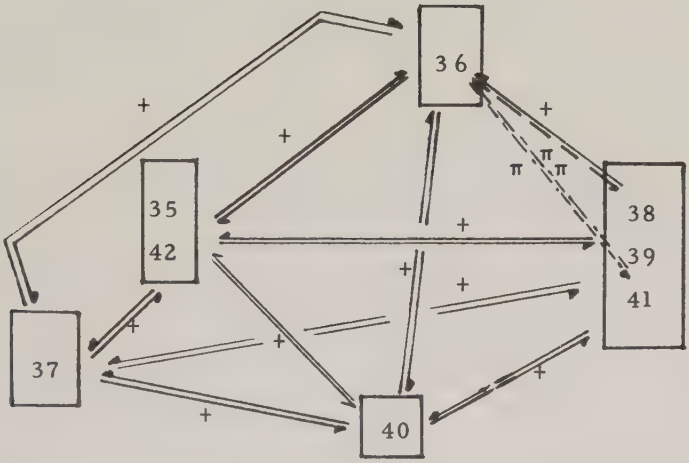
c) Comparaison des typages en sérologie et en culture mixte. Conclusions

Classement sérologique				Classement en culture mixte			
BC	BD	AC	AD	..	..	..	..
35	37	38	39	35	37	40	39
42	36	40	41	42			41
							36
							38

On s'aperçoit que le porc n° 36 qui, en sérologie, est BD, comme un de ses frères (37), en diffère complètement en culture mixte et se retrouve au contraire dans le groupe de porcelets n° 39 et 41 (AD). Il en est de même pour le porcelet n° 38 dont la sérologie l'assimile au groupe AC, mais qui en culture mixte devient également AD. Ainsi, on constate que les porcelets 36 et 38, bien que totalement différents en sérologie, BD et AC respectivement, sont très proches en culture mixte.

Ce résultat s'interprète aisément si l'on admet que les porcelets n° 36 et n° 38 résultent tous les deux d'une recombinaison chromosomique, l'une ayant eu lieu lors de la méïose chez le père, l'autre chez la mère.

TABLEAU XLIII - Résultats du typage en culture mixte de la famille 218 (porcelets uniquement).



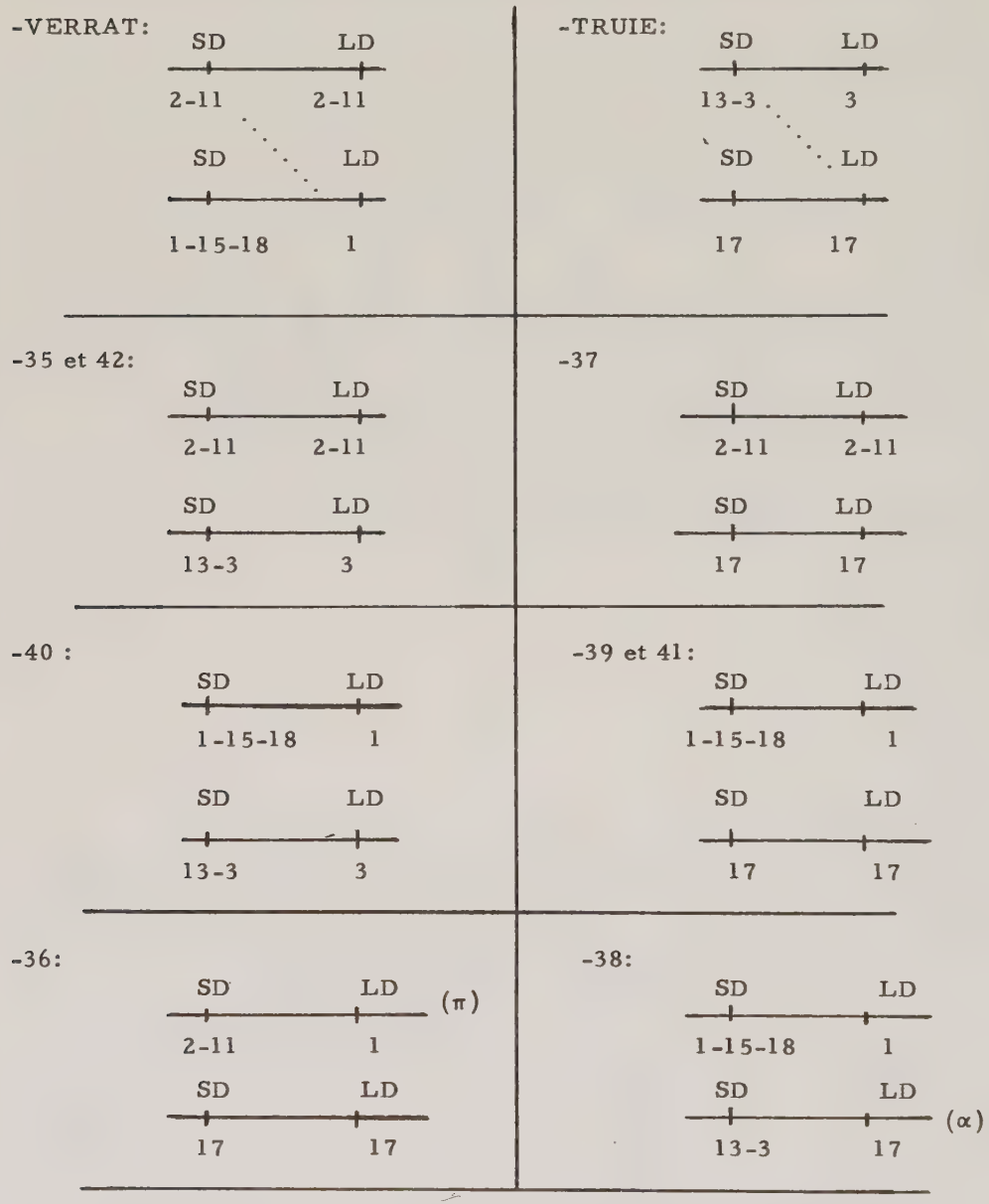
-Légende:

35 ⇄ 37 : 35 et 37 se stimulent réciproque--ment et fortement.

36 ⇄ 38 : 36 stimule peu 38
38 stimule fortement 36.

[35 / 42] : 35 et 42 ne se stimulent pas entre--eux.

SCHEMA XLIV - Conclusion génotypique du typage de la famille 218:



-Pour le porc 36 , c'est le chromosome paternel (π) d'origine qui a subi un crossing-over, pour le porc 38, c'est le chromosome mater--nel d'origine (α).

- ..... : les crossing-over survenus chez les parents.

Cette conclusion est précisée au niveau génotypique dans le schéma XLIV.

Les faibles stimulations en culture mixte, à l'intérieur du groupe AD, entre le porc 36 et le reste du groupe, peuvent s'expliquer de façon hypothétique, de la manière suivante :

. La recombinaison qui a eu lieu ne s'est pas réalisée d'une manière identique entre les deux régions LD et SD ; ainsi 36 et 41 se stimulent faiblement du fait que 36 n'a pas acquis tout le caractère LD-1 ; et 38 réagit avec 36, du fait qu'il n'a pas acquis tout le caractère 17.

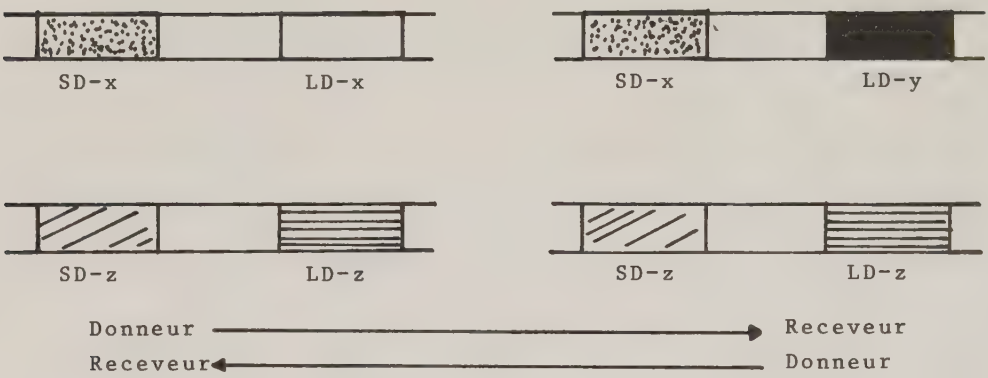
Une autre interprétation possible de ces faibles réactivités fait intervenir l'existence de loci LD mineurs, situés entre SD et D (LD).

2. Les alloimmunisations nécessaires à l'étude de la région D-DR

L'idée de rechercher les produits des gènes de la région D-DR, déjà posée pour la souris, a, nous l'avons vu, été émise pour le porc et l'existence de recombinants, ne différant entre eux qu'au niveau de cette région, a rendu possibles ces travaux. En effet, si les produits hypothétiques de la région D-DR étaient exprimés au niveau de la membrane cellulaire, ces porcs recombinants permettaient de réaliser des alloimmunisations particulièrement adéquates pour produire des anticorps les détectant.

Cette étude a été permise par la mise en oeuvre d'immunisations croisées (dans les deux sens) entre porcelets frères, non recombinants d'un côté et recombinants de l'autre, comme l'indique le schéma suivant.

a) Schéma des immunisations



Le schéma XLV montre ce type d'immunisations réalisées dans la famille 218 (exemple précédent).

b) Contrôle des immunisations

Les sérums obtenus par ce type d'immunisations doivent être contrôlés du point de vue de leur spécificité. Pour cela, on teste en cytotoxicité les sérums obtenus avec les cellules des porcelets de la famille.

Le tableau ci-après montre, dans la famille 218, la réponse obtenue avec les quatre réactifs produits vis-à-vis des porcelets de cette famille.

Sérums / Haplotype reconnu	17 36	17 38	17 40	17 37
1				40-38-36 39-41
2-11	35-42-37			
3		35-42-40		
17			38-37-36 39-41	

Haplotype reconnu = haplotype contre lequel le sérum est censé avoir été fait. Les numéros dans les cases sont ceux des cellules lysées par le sérum correspondant.

Dans l'exemple présent, les cellules lysées sont bien celles possédant l'haplotype contre lequel le sérum est censé être dirigé.

c) La batterie de sérums obtenus

Grâce aux diverses recombinaisons observées dans les différentes familles de porcelets, on a pu ainsi constituer une batterie de sérums dirigés contre la région D-DR. Les sérums obtenus et leurs spécificités supposées sont réunis dans le tableau XVLI.

Remarque : Il n'est pas impossible d'utiliser des porcs autres que recombinants, en produisant des sérums anti SD + DR. Se pose alors le problème de la purification, afin d'éliminer les anticorps anti-SD. Les recombinaisons sont donc particulièrement utiles, mais pas totalement indispensables.

3. Distribution cellulaire des antigènes D-DR

Comme nous l'avons précisé au chapitre I, une caractéristique essentielle des antigènes Ia de la souris est leur

SCHEMA XLV - Immunisations réalisées dans la famille 218:

Numéro du porc	Haplotype commun aux deux porcs	Haplotype immuniseur	numéro du sérum	activité anti-DR attendue
1736	SD — LD 17 — 17	SD — LD 2-11 — 1	1736	LD 2-11
X				
1737	SD — LD 17 — 17	SD — LD 2-11 — 2-11	1737	LD 1
1738	SD — LD 1-15-18 — 1	SD — LD 13-3 — 17	1738	LD 3
X				
1740	SD — LD 1-15-18 — 1	SD — LD 13-3 — 3	1740	LD 17

X :signifie, immunisation croisée entre les deux porcs.

TABLEAU XLVI - Batterie de sérums anti-D-DR utilisés lors de notre expérimentation:

Sérums	Haplotype commun	Haplotype du receveur	Haplotype de l'immuniseur
4026	SD 2-11 LD 1	SD 1-13-3 LD 3	SD 1-13-3 LD 4
4137	SD 17 LD(17)	SD 1-13-3 LD 3	SD 1-13-3 LD 4
1736	SD 17 LD(17)	SD 2-11 LD 1	SD 2-11 LD(2-11)
1823	SD 1-13-3 LD 3	SD 10 LD 1	SD 10 LD 2
1979	SD 1-13-3 LD 3	SD 10 LD 1	SD 10 LD 2
1311	SD 1-15-18 LD 6	SD 1-15-18 LD 6	SD 1-15-18 LD(1-15-18)
1553	SD 1-15-18 LD 6	SD 1-15-18 LD 6	idem
1743	SD 17 LD (17)	SD 2-11 LD(2-11)	SD 2-11 LD 1
1963	SD 1-13-3 LD 3	SD 10 LD 2	SD 10 LD 2
1679	SD 1-15-18 LD(1-15-18)	SD 16-11 LD(16-11)	SD 16-11 LD(17)
1740	SD1-15-18 LD 1	SD 1-13-3 LD 3	SD1-13-3 LD(17)
1738	SD 1-15-18 LD 1	SD 1-13-3 LD(17)	SD1-13-3 LD 3
1478	SD 12 LD 4	SD 1-13-3 LD 4	SD1-13-3 LD 3
1526	SD 14 LD(14)	SD 2-11 LD(2-11)	SD X LD X R. C. 5-11
4013	SD 2-11 LD 1	SD 1-13-3 LD 4	SD1-13-3 LD 3
4125	SD 17 LD(17)	SD 1-13-3 LD 4	SD1-13-3 LD 3

X: inconnu - R. C. 5-11: réaction croisée avec le SD 5-11.

distribution cellulaire restreinte, contrastant avec la distribution ubiquitaire des antigènes sérologiquement définis.

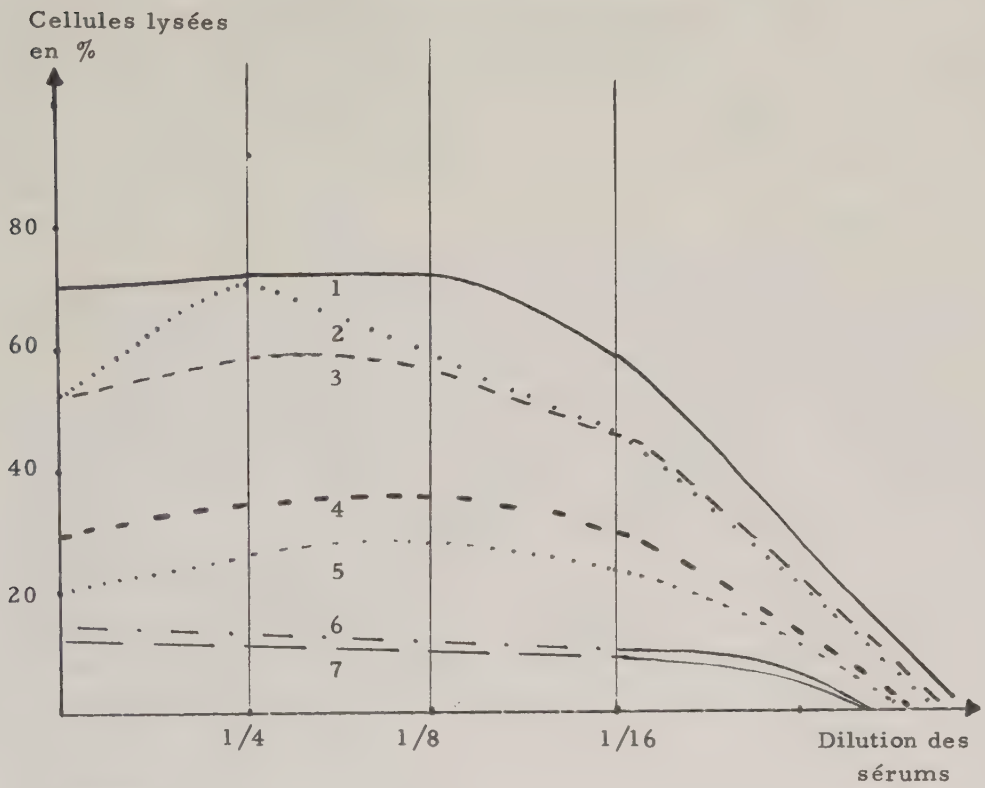
Il semble qu'il en soit de même chez le porc pour la région Ia-équivalente, la région D-DR. On a en effet remarqué, comme chez la souris, que le plateau de lyse dans les tests de lymphocytotoxicité des sérums anti-D-DR avec des cellules lymphocytaires totales ne dépassait guère les 30 % de lyse. L'idée a donc été émise de purifier certaines sous-populations de lymphocytes et de les tester sur ces sérums. C'est ainsi qu'ont été mises au point plusieurs techniques de séparation des lymphocytes dont deux non-spécifiques (technique à la laine de nylon et technique des rosettes), et une technique spécifique mais non encore utilisée en routine au L.R.A. (celle des anti-immunoglobulines) (cf. chapitre II).

Les résultats de ces épreuves sont assez significatifs comme le montre le graphe ci-après. Ce graphe montre la différence significative qui existe entre le niveau du plateau de lyse observé avec des cellules totales et celui observé avec des cellules purifiées.

Le graphe XLVII montre la différence notable qui apparaît dans le taux de lyse avec l'enrichissement en cellules B : le taux de lyse maximum est le plus important pour les lymphocytes adhérents sur la laine de nylon et déplétés en lymphocytes formant rosettes-mouton, plus que pour les cellules simplement adhérentes ou simplement déplétées en lymphocytes faisant des rosettes, enfin bien plus que pour les cellules non traitées.

Un autre graphe (non représenté, car identique en tous points au graphe XVLII) montre la spécificité d'action du sérum et la distribution restreinte des antigènes D-DR. Ce sérum, absorbé sur plaquettes, maintient relativement son niveau d'action cytotoxique, ce qui implique d'une part qu'il n'est nullement dirigé contre les structures SD, qui sont norma-

GRAPHE XLVII - Comparaison des taux de lyse observés, avec un même sérum anti-DR, sur des populations lymphoplus ou moins enrichies en cellules B.



LEGENDE:

1- Lymphocytes adhérents et déplétés en lymphocytes formant des rosettes mouton E;
2- Lymphocytes adhérents;
3- Lymphocytes déplétés en lymphocytes formant des rosettes mouton E;
4- Lymphocytes + Dextran + Ficoll;
5- Lymphocytes non traités;
6- Lymphocytes non adhérents;
7- Lymphocytes non adhérents et déplétés en lymphocytes formant des ro--settes mouton E;

lement portées par les plaquettes, et que d'autre part les plaquettes ne portent pas les caractères D-DR.

N.B. : l'exemple pris est celui du sérum 1823 (anti-LD-10) testé avec les cellules 1960 (SD 10 - LD 10/SD 1-13-3 - LD-3).

B. RESULTATS OBTENUS

1. Résultats bruts

Le tableau XLVIII donne les résultats bruts obtenus directement après transcription des lectures au microscope sur le papier. La ligne du haut indique les sérums décrits de 1 à 22. Les trois (ou quatre) premiers chiffres de chaque ligne correspondent au numéro des cellules (ces cellules sont classées par ordre de numéro croissant). La présence de l'antigène sur la cellule est notée 1, son absence 0.

Tels quels, ces résultats ne sont pas interprétables directement. Ils ne permettent pas, en particulier, de comparer facilement les sérums entre eux. L'ordinateur va ordonner ces données et nous permettre d'aborder les différents aspects de cette analyse.

Sur les 100 cellules testées à l'origine, 29 ont été éliminées de l'analyse, car elles présentaient une viabilité trop faible et, de ce fait, ont donné des résultats peu reproductibles. Aussi, le travail a été réalisé sur 71 cellules.

Le tableau XLIX fournit les fréquences phénotypiques et génétiques calculées des sérums vis-à-vis de 71 cellules. (N.B. : on désigne par fréquence phénotypique, la fréquence de positivité d'un sérum. On calcule la fréquence génique, en tenant compte de la distribution théorique dans la population à l'équilibre, des homozygotes et des hétérozygotes. Celle-ci permet le calcul du CHI-2 d'allélisme). On observe, en général, des fréquences élevées, qui vont de 0,11 à 0,86 (fréquences

TABLEAU XLVIII - Résultats bruts:

	abcdefghijklmnopqrstuv
801	001000011111101110011
803	000001001001101000100
807	000000000001001100111
808	000000000001001100111
810	001001111000000100001
813	000000000000001100101
817	000000101000001000000
823	000001000000000000000
828	000000101000000000000
829	001001100000000000000
830	111001111110111000111
832	001001111111001100000
833	001101111101001001011
835	000001010001111101111
839	000101001011111100111
841	110111110011011101011
842	000000011000001000000
843	010001010000000010000
845	000000011000001011000
849	000010011001111110011
855	111101100100101101011
861	000000001000001001000
865	011100111110000000100
891	000100011110001010000
893	001100111110001000000
895	000000011110001100010
898	001100011000000000000
899	001101010111011000011
901	001111111111010101000
1011	101111111111100110111
1012	101000111011101111011
1023	101001111000001000011
1029	001000011011001100111
1034	000000000001111100111
1036	001100111101101111111
1041	000001000001001100111
1042	101010101000001100111
1043	001100111100001000011
1047	001000011000001010010
1048	011001111011111111011
1049	001100110101111111111
1051	101110111111111111011
1054	101110011110011101011
1055	001001111010101111000
1057	111000111001111100111
1058	101001101000001000000
1059	101101111111111011100
1061	000000011000001111111

TABLEAU XLVIII - Suite :

	abcdef ghi j klmnopqr stuv
1066	001 001111111111111 00111
1068	001 1 001 11 0000011 000111
1069	1111 00111 0111 01111 0111
1080	11111 0111 0011111 001111
1082	1 01 000011 00111111 0001 00
1086	1111 00011 0001 01 01 00111
1088	000001 01 01 000000000001
1094	001 1 001111100111111111
1095	001 1 01111 01 01 0001 00001
1096	1 01 001111 0111 011 000111
1098	000000011111101 1 000111
1101	001 001 011 001 001 00001 00
1103	001 1 001 11 000001 0000111
1104	1 01 001 1 01 00111111 0001 00
1106	001 0001111 10001 00001 00
1108	001 00111111111 0111 001 01
1114	1 011 01111 0000000000000
1118	001 0000111 10001 1 000000
1143	1 01 001111111111 011 000111
1149	1 001 001111 100011111 0000
1151	1111 001 000111 01 00001 00
1152	001 1 01111 000001 0000111
1154	1 011 001 11 01 0001 01 00001

·_ _·

Légende: - Action cytotoxique inférieure à 60% de lyse = 0
- " " supérieure à " " " = 1

- Nomenclature des sérums :

4026	1/2	= 40261	= a
4026	1/16	= 40262	= b
4137	1/2	= 41371	= c
4137	1/16	= 41372	= d
1736	1/64	= 1736	= e
1823	1/16	= 1823	= f
1979	1/4	= 1979	= g
1311	1/128	= 1311	= h
1553	1/32	= 1553	= i
1743	1/64	= 1743	= j
1963	1/2	= 1963	= k
1679	1/64	= 1679	= l
1740	1/8	= 17401	= m
1740	1/32	= 17402	= n
1478	1/16	= 14781	= o
1478	1/126	= 14782	= p
1526	1/8	= 15261	= q
1526	1/256	= 15262	= r

1738	1/32	= 1738	= s
4013	1/4	= 40131	= t
4013	1/32	= 40132	= u
4125	1/2	= 4125	= v

TABLEAU XLIX - Fréquences phénotypiques et gèniques des sérums anti-DR:

SERUM	FR. PHEN.	FR. GEN.
40261	0.32	0.18
40262	0.15	0.08
41371	0.68	0.43
41372	0.41	0.23
1736	0.11	0.06
1823	0.44	0.25
1979	0.59	0.36
1311	0.76	0.51
1553	0.79	0.54
1743	0.38	0.21
1963	0.45	0.26
1679	0.45	0.26
17401	0.41	0.23
17402	0.27	0.14
14781	0.86	0.62
15261	0.35	0.20
15262	0.27	0.14
1738	0.21	0.11
40131	0.68	0.43
40132	0.52	0.31
4125	0.72	0.47

phénotypiques). Tous les sérums ont été retenus pour l'analyse des sérums entre eux, à l'exception du sérum 14781 dont la fréquence est proche de 0,90 (SCHWARTZ, 1975).

2. Calcul du CHI-2 d'indépendance et du coefficient de corrélation

Pour permettre un meilleur ordonnancement des données et une étude plus approfondie des sérums, il est nécessaire de les comparer deux à deux (test classiquement utilisé en sérologie), pour leur action cytotoxique sur chaque cellule. Cette comparaison (donnée par le programme d'ordinateur) est permise par le CHI-2 d'indépendance (test de CHI-2 à un degré de liberté) et le coefficient de corrélation (cf. chapitre II), calculés à partir de trois valeurs, le nombre de réactions positives communes aux deux sérums, le nombre de réactions négatives communes et le nombre de réactions divergentes, pour chaque couple de sérums.

Le tableau L montre le type de résultats obtenus avec, pour exemple, celui du sérum 40261.

Le tableau LI donne l'ensemble des résultats, classés avec un début d'interprétation (théorique, car obtenue par le calcul de l'ordinateur) pour l'ensemble des sérums.

A partir de ces résultats, il est possible de faire un nouveau tri. On élimine ainsi les sérums indépendants (CHI-2 < 3,84 non exploités, car pour chaque série allélique nous disposons d'un trop faible nombre de sérums) pour ne conserver que les sérums dont le CHI-2 est supérieur à 3,84, sérums allèles ou liés entre eux par une ou plusieurs spécificités communes. Ces derniers apparaissent avec leur coefficient de corrélation dans le tableau LII.

La première observation que l'on peut faire est que, d'une façon générale, les coefficients de corrélation obtenus

TABLEAU L - Comparaison des sérums deux à deux; exemple du sérum 40261:

Sérums	++	+-	-+	--	NbRèp.	Chi2	Corr
40261-40262	8	15	3	45	71	9.67	0.37
40261-41371	21	2	27	21	71	8.72	0.36
40261-41372	13	10	16	32	71	3.46	0.23
40261- 1736	6	17	2	46	71	7.47	0.33
40261- 1823	11	12	20	28	71	0.24	0.06
40261- 1979	20	3	22	26	71	10.88	0.40
40261- 1311	18	5	36	12	71	0.09	0.04
40261- 1553	20	3	36	12	71	1.33	0.14
40261- 1743	8	15	19	29	71	0.15	-0.03
40261- 1963	13	10	19	29	71	1.80	0.16
40261- 1679	13	10	19	29	71	1.80	0.16
40261-17401	14	9	15	33	71	5.65	0.29
40261-17402	9	14	10	38	71	2.66	0.20
40261-14781	22	1	39	9	71	2.67	0.20
40261-14782	15	8	22	26	71	2.34	0.19
40261-15261	8	15	17	31	71	0.00	0.01
40261-15262	9	14	10	38	71	2.66	0.20
40261- 1738	4	19	11	37	71	0.28	-0.05
40261-40131	18	5	30	18	71	1.76	0.16
40261-40132	15	8	22	26	71	2.34	0.19
40261- 4125	17	6	34	14	71	0.07	0.04

-Légende: -Nombre de cas où:

-++: le premier et le second sérum sont positifs ensemble.
-+-: le premier sérum est positif et le second négatif.
--+: le " " " négatif " " " positif.
---: le premier et le second sérum sont négatifs ensemble.

-NbRèp. = nombre total de réponses. (=nombre total des cellules testées)

-Chi2 = Chi2 d'indépendance.
-Corr = Coefficient de corrélation.

TABLEAU LI - Liaisons, corrélations, inclusions sérologiques; Résultats pour l'ensemble des sérums.

-CORRELATION NEGATIVE ET NON EXCLUSION D'ALLELISME : aucun sérum

-CORRELATION POSITIVE :

-sérums indépendants et non allèles:

40261 41372/40261 1823/40261 1963/40261 1679/40261 17402/40261 14781/40261 14782/40261 15261/
40261 15262/40261 40131/40261 40132/40261 4125/40262 41371/40262 41372/40262 1823/40262 1979/
40262 1311/40262 1963/40262 1679/40262 14782/40262 15261/40262 40131/40262 40132/40262 4125/
41371 1736/41371 1743/41371 17401/41371 14781/41371 15261/41371 15262/41371 40131/41371 4125/
41372 1553/41372 1963/41372 17401/41372 17402/41372 14781/41372 15261/41372 1738/41372 40132/
1736 1979/1736 1311/1736 1553/1736 1963/1736 1679/1736 17401/1736 14781/1736 40131/1736 4125/
1823 1979/1823 1743/1823 1963/1823 1679/1823 17401/1823 17402/1979 1311/1979 1743/1979 17401/
1979 17402/1979 14781/1979 15261/1979 15262/1979 4125/1311 17402/1311 14781/1311 14782/
1311 15262/1311 40131/1311 40132/1553 17401/1553 14781/1743 1679/1743 17401/1743 17402/
1743 14781/ 1743 14782/1743 15261/1743 15262/1743 40131/1743 40132/1963 1679/1963 17401/
1963 17402/1963 14781/1963 14782/1963 15261/1963 15262/1963 40132/1679 15261/1679 15262/
17401 15262/17401 1738/17402 15261/17402 15262/17402 4125/14781 15261/14782 15261/15261 1738/
15261 40132/15262 1738/15262 40131/.

-sérums liés :

. corrélation inférieure à 0,4:

-sans inclusion:

40261 40262/40261 41371/40261 1736/40261 17401/40262 17401/41371 41372/41371 1311/41371 1963/
41372 1736/41372 1979/41372 1311/41372 1743/41372 15262/1736 17402/1979 1553/1979 1963/
1311 1963/1311 4125/1553 1963/1553 15261/1963 4125/1679 1738/17401 15261/17401 40131/17401 40132/
17402 14782/17402 1738/17402 40131/17402 40132/14781 4125/14782 15262/14782 1738/14782 4125/
15261 15262/15262 40132/15262 4125/40131 4125/.

-sérum 1 inclus dans sérum 2:

1736 14782/1736 40132/1679 14781/17401 14781/17402 14781/1738 40131/1738 4125/1743 1311/
15262 14781/.

. corrélation comprise entre 0,4 et 0,7:

-sans inclusion:

40261 1979/41371 1979/1311 1553/1743 1963/1679 17401/1679 17402/1679 14782/1679 40132/
17401 17402/17401 14782/14782 40131/14782 40132/.

-sérum 1 inclus dans sérum 2:

1679 40131/1738 40132/40132 4125/15261 1311/14782 14781/40131 14781/40132 14781/.

. corrélation comprise entre 0,7 et 0,9:

-sérum 1 inclus dans sérum 2:

40132 40131/.

. corrélation supérieure à 0,9: aucun sérum.

	40262	41371	41372	1736	1823	1979	1311	1553	1743	1963	1679	17401	17402	14781	14782	15261	15262	1738	40131	40132	4125
40261	.37	.36		.33		.40						.29									
40262												.28									
41371			.34			.59	.39	.38		.27											
41372				.25		.35	.27		.30								.28				
1736													.29		.26						.26
1823																					
1979							.28		.24												
1311								.44	.38	.38						.42					.24
1553										.27						.24					
1743										.52											
1963																					.26
1679											.58	.42	.37	.53				.30	.57	.48	
17401												.41	.26	.40	.35				.34	.29	
17402													.25	.33				.32	.29	.33	
14781														.43	.25			.50	.43	.38	
14782															.33	.36	.55	.55	.34		
15261															.36						
15262																		.27	.24		
1738																		.29	.43	.33	
40131																			.73	.31	
40132																				.60	

TABLEAU LII - Coefficients de corrélation entre les sérums anti-DR pour les porcs non-apparentés:

sont faibles, un seul d'entre eux dépassant 0,70 (entre deux dilutions d'un même sérum). Cette mauvaise corrélation des sérums peut s'expliquer par le fait que ce sont les premiers sérums D-DR produits. Il est inévitable qu'ils soient, en conséquence, complexes et polyvalents. L'amélioration de ces réactifs n'est possible qu'après une étude des spécificités reconnues en commun et séparément par ces sérums, étude qui permettra par la suite de mettre en oeuvre les absorptions adéquates.

Pour cela, une autre opération de tri, permise par la constitution de clusters (il s'agit de groupes de sérums assez bien corrélés) est nécessaire. Le tableau LII montre l'existence de quatre clusters principaux. En première approximation, on peut considérer que chaque cluster reconnaît un antigène ou un groupe d'antigènes souvent associés.

N.B. : Aucun groupe de sérums présentant un coefficient de corrélation négatif, un CHI-2 > 3,84 et un CHI-2 d'allélisme < 3,84 n'a été observé. A priori, nous pouvons dire que nous ne disposons d'aucun couple de sérums allèles.

C. DISCUSSION DES RESULTATS

1. Les clusters

Dans chacun des quatre clusters, on a effectué un choix de sérums qui semblent représenter le cluster. Ainsi, les différents groupes sont composés de la manière suivante :

Cluster	Le cluster représente la communauté sérologique de	Spécificité Ia
C1	4026 - 41371 - 1979	Ia 12 (+Ia 10)
C2	1743 - 1963	Ia 18
C3	17401 - 17402 - 1679	Ia 17
C4	40131 - 40132 - 14782	Ia 3

Principe de la formation des clusters

Cluster C1 :

40261 et 41371, qui ont une fréquence phénotypique de 0,32 et 0,68 respectivement, présentent un coefficient de corrélation de 0,36 ; ils sont tous deux dirigés contre la spécificité Ia 12. Le sérum 1979, bien que dirigé contre la spécificité Ia 10, a été adjoint à ce groupe car son coefficient de corrélation avec les deux précédents sérums est relativement élevé : 0,40 avec le premier, 0,59 avec le second. Aucun autre sérum n'est bien corrélé aux sérums 40261 et 41371.

Cluster C2 :

1743 et 1963 sont tous les deux dirigés contre la spécificité Ia 10 ; leur coefficient de corrélation est de 0,52 et leurs fréquences respectives de 0,38 et 0,45. Aucun autre sérum n'est dirigé contre la même spécificité, et aucun n'est bien corrélé aux deux à la fois.

Cluster C3 :

1679, 17401 et 17402 sont tous trois dirigés contre la spécificité Ia 17 ; les deux derniers sérums sont respectivement corrélés à 1679 à 0,58 et 0,42 ; les fréquences sont respectivement de 0,45, 0,41 et 0,27. Pour les autres sérums, même remarque que pour le cluster C2.

Cluster C4 :

14782, 40131 et 40132 sont tous trois dirigés contre la spécificité Ia 3 : 40131 et 40132 sont corrélés à 0,73, et

corrélés à 14782 à 0,55 tous les deux ; leurs fréquences respectives sont de 0,52, 0,68 et 0,52. 14781 n'a pas été retenu à cause de sa trop grande fréquence ; de même 1526 et 1738 n'ont pas été retenus sur ce cluster, car trop mal corrélés entre eux et avec les trois premiers.

Données réarrangées - Etude des clusters

Le tableau LIII donne les résultats d'une nouvelle analyse des cellules classées, cette fois, en fonction de leur réactivité vis-à-vis des quatre groupes de sérums principaux, définis précédemment, et non plus par rapport aux sérums pris individuellement. A la suite des quatre clusters (C1,C2, C3, C4), on a fait figurer les réactions des cellules contre chacun des sérums.

N.B. : le chiffre 1 désigne une réaction positive, son absence, une réaction négative.

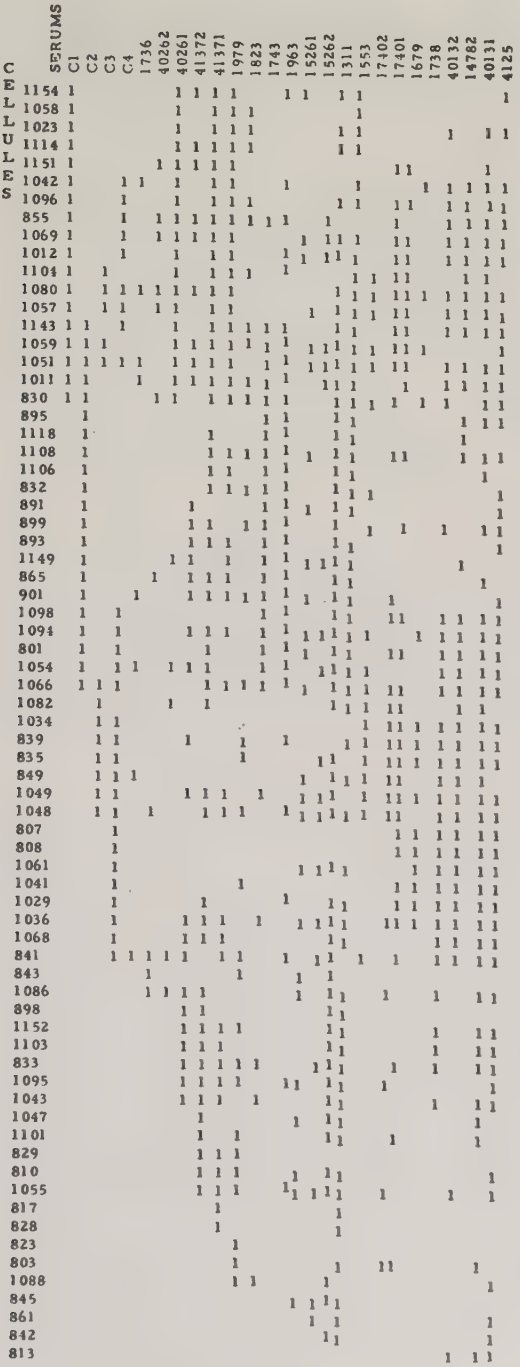
Commentaire :

Un grand nombre de cellules sont positives avec au moins un cluster. Toutefois, 22 cellules sur 71 ne sont pas reconnues par les sérums qui ont servi à définir les quatre clusters. Ceci peut s'expliquer par le niveau relativement faible de la corrélation entre les sérums. Il y a, de ce fait, d'autres antigènes qui ne sont pas définis dans cette analyse, soit que leur fréquence soit trop faible, soit que les sérums positifs avec les cellules portant ces antigènes ne soient pas ou soient très mal corrélés entre eux.

A la suite des clusters, les sérums sont présentés individuellement. Cela permet d'apprécier visuellement les relations que ces sérums peuvent avoir avec un ou plusieurs des clusters définis.

Enfin, on note que certaines cellules sont positives avec les sérums spécifiques de trois, voire de quatre clusters.

TABLEAU LIII - Données réarrangées selon les 4 clusters:



Cela peut être interprété comme un défaut de définition des antigènes.

Remarquons que C3 est presque inclus dans C4. Il semble toutefois que C1, C2, C3, C4 définissent quatre antigènes à peu près allèles.

Dans le tableau LIV, il s'agit d'un essai de rattachement des différents sérums qui n'ont pas servi à la définition des clusters, à ces mêmes clusters. Pour cela, les 1 des réactions positives du tableau LIII ont été remplacés par des chiffres de 1 à 6. Les réactions positives des sérums rapportés au cluster C1 sont notées 1, de même pour les clusters C2, C3 et C4. Les sérums 1736 et 1526, non rattachables d'emblée à un cluster bien défini, sont affectés des chiffres 5 et 6.

L'étude des quatre clusters nous permet de constater que les spécificités reconnues par les clustes C1 et C2 se comportent comme s'il s'agissait d'antigènes contrôlés par des allèles, les deux clusters n'ayant que deux réactions communes. Le groupe C3 semble, lui, plus ou moins inclus dans C4.

Parmi les sérums constituant le C1, 4026 semble le plus spécifique, ne présentant que très peu d'extraréactions en dehors du cluster. L'observation des trois sérums, 4026, 4137, 1979 et du cluster C1, montre qu'il existe certainement une spécificité commune au Ia 2 (1979) et au Ia 4 (4026 - 4137), ou que le C1 correspond à une spécificité liée à la fois au Ia 2 et au Ia 4. Il est à noter, en outre, que le sérum 1823, qui a été produit contre le même haplotype que le 1979, réagit de manière plus restreinte que ce dernier, et donc plus spécifique. Nous pouvons penser que le 1823 est plus spécifique du Ia 2 et moins lié que 1979 au Ia 4.

TABLEAU LIV - Interprétation des spécificités selon les 4 clusters:

CELLULES	SERUMS	C1	C2	C3	C4	1736	40262	40261	41372	41371	1979	1823	1743	1963	15261	15262	1311	1553	17402	17401	1679	1738	40132	14782	40131	4125
1154		1					1	1	1	1			2	6		2	2									4
1058		1					1		1	1	1						2									
1023		1					1		1	1	1					2	2						4		4	4
1114		1					1	1	1	1	1					2	2									
1151		1				1	1	1	1	1										3	3			4		
1042		1			4	5		1		1	1			2				2					4	4	4	4	4
1096		1			4			1		1	1	1					2	2		3	3		4	4	4	4
855		1			4		1	1	1	1	1	1	2	2		6				3			4	4	4	4
1069		1			4		1	1	1	1	1				6	6	2	2		3	3		4	4	4	4
1012		1			4			1		1	1		2	6	6	2	2			3	3		4	4	4	4
1104		1		3				1		1	1	1		2				2	3	3	3			4	4	
1080		1		3	4	5	1	1	1	1	1						2	2	3	3	3	4	4	4	4	4
1057		1		3	4		1	1		1	1				6		2	2	3	3	3		4	4	4	4
1143		1	2		4			1		1	1	1	2	2			2	2		3	3		4	4	4	4
1059		1	2	3				1	1	1	1	1	2	2	6	6	2	2	3	3	3	4				4
1051		1	2	3	4	5		1	1	1	1		2	2	6	6	2	2	3	3	3		4	4	4	4
1011		1	2		4	5		1	1	1	1	1	2	2		6	2	2		3		4	4	4	4	4
830		1	2				1	1		1	1	1	2	2			2	2	3	3		4	4		4	4
895			2										2	2			2	2						4	4	4
1118			2							1			2	2			2	2						4		
1108			2							1	1	1	2	2	6		2	2		3	3			4	4	4
1106			2							1	1		2	2			2	2							4	
832			2							1	1	1	2	2			2	2	3							4
891			2						1				2	2	6		2	2								4
899			2						1	1		1	2	2			2		3		3		4		4	4
893			2						1	1	1		2	2			2	2								4
1149			2					1	1		1		2	2	6	6	2	2						4		
865			2				1		1	1	1		2	2			2	2							4	
901			2			5			1	1	1	1	2	2	6		2	2		3						4
1098			2		4								2	2			2	2		3	3		4	4	4	4
1094			2		4				1	1	1		2	2	6	6	2	2	3			4	4	4	4	4
801			2		4					1			2	2	6		2	2		3	3		4	4	4	4
1054			2		4	5		1	1	1			2	2		6	2	2	3				4	4	4	4
1066			2	3	4					1	1	1	2	2	6		2	2	3	3	3		4	4	4	4
1082				3				1		1							2	2	3	3	3			4	4	
1034				3	4														3	3	3	4	4	4	4	4
839				3	4				1			1		2				2	3	3	3	4	4	4	4	4
835				3	4							1				6	2		3	3	3	4	4	4	4	4
849				3	4	5									6		2	2	3	3	3		4	4	4	
1049				3	4				1	1	1		2		6	6	2		3	3	3	4	4	4	4	4
1048				3	4		1			1	1	1		2	6	6	2	2	3	3	3		4	4	4	4
807					4																3	4	4	4	4	4
808					4																3	4	4	4	4	4
1061					4										6	6	2	2					4	4	4	4
1041					4							1									3	4	4	4	4	4
1029					4					1				2			2	2			3	4	4	4	4	4
1036					4				1	1	1		2		6	6	2	2		3	3	4	4	4	4	4
1068					4				1	1	1						2	2					4	4	4	4
841					4	5	1	1	1		1	1		2		6	2		3		3		4	4	4	4
843							1					1			6		2									
1086							1	1	1	1					6		2	2		3			4		4	4
898									1	1							2	2								
1152									1	1	1	1					2	2					4		4	4
1103									1	1	1						2	2					4		4	4
833									1	1	1	1	2			6	2	2		3			4		4	4
1095									1	1	1	1		2	6		2	2		3						4
1043									1	1	1		2				2	2					4		4	4
1047										1					6		2	2							4	
1101										1		1					2	2		3					4	
829										1	1	1														
810										1	1	1			6		2	2								4
1055										1	1	1		2	6	6	2	2		3				4		4
817											1							2								
828											1							2								
823												1														
803												1						2		3	3			4		
1088												1	2				2									4
845															6	6	2	2								
861															6		2									4
842																	2	2								4
813																								4	4	4

Les sérums rattachés au cluster C2 (Ia 1) (1743, 1963, 1311, 1553) peuvent être séparés en deux groupes distincts. Le groupe des sérums 1743 et 1963 semble assez spécifique ; c'est un groupe homogène présentant peu d'extraréactions par rapport au cluster. Le groupe des sérums 1311 et 1553 réagit de manière plus large ; en effet, il inclut le précédent et reconnaît donc d'autres caractères ; ses extraréactions sont difficilement interprétables, car très fréquentes.

Parmi les sérums du groupe C3 (Ia 17) (sérums 17401, 17402 et 1679), le sérum 17402 semble le plus représentatif du groupe, le sérum 1679 est plus fréquent. Pour le sérum 17401, il semble exister un phénomène de zone, car quoique plus fréquent que le sérum 17402, il présente des réactions en moins.

Dans le cluster C4, 14782 et 40132 sont les sérums les plus représentatifs du cluster et définissent la spécificité Ia 3. Les sérums 14781, 40131 et 4125 semblent reconnaître la même spécificité, mais présentent une réactivité plus intense et sont donc plus polymorphes. Le sérum 1738 est inclus dans le C4 ; son étude est relativement difficile car il ne lyse que 40 à 70 % des cellules du test. Il reconnaît peut-être une sous-population, mais quoi qu'il en soit il serait préférable de revoir son titre d'utilisation.

Le sérum 1526, dirigé à l'origine contre une spécificité inconnue (l'haplotype immuniseur montre une réaction croisée avec l'antigène SD 5-11) n'est rattachable à aucun cluster ; il recouvre en partie les groupes C3 et C4 ; il nécessite une étude plus approfondie, en particulier par des essais d'absorption, pour nous permettre d'interpréter sa réactivité.

Le sérum 1736, peu fréquent et dont les réactions sont, soit nettement positives, soit nettement négatives, semble définir une spécificité différente des quatre précédentes ; il

a été produit contre un haplotype SD 2-11/LD 2-11. Il présente toutefois des réactions communes avec les sérums du groupe C4 et un peu avec ceux du groupe C2. Une absorption serait nécessaire pour savoir s'il s'agit de la même spécificité ou d'une autre, parfois associée. Comme précédemment, ce sérum doit faire l'objet d'une étude plus approfondie.

En conclusion, on peut noter qu'il semble exister quatre groupes élémentaires indépendants, auxquels on peut ajouter les sérums 1526 et 1736 ; ces groupes donnent un typage cellulaire de 1 à 4 caractères, à quelques exceptions près, que l'on peut rattacher, soit à des réactions croisées, soit à des cellules trop réactives du fait d'un témoin déjà trop fort. Enfin, il apparaît que les sérums, déjà améliorés depuis une étude dans les familles, sont encore complexes et présentent encore souvent des réactions ininterprétables.

2. Comparaison Ia-LD et Ia-SD

Pour pousser plus loin notre étude immunogénétique des antigènes Ia, il était nécessaire de comparer les résultats obtenus précédemment au typage de ces mêmes cellules, pour les antigènes SD et la réponse LD.

Une première approche consiste à calculer les coefficients de corrélation entre Ia et LD d'une part, et Ia et SD d'autre part.

a) Comparaison Ia-LD

Le tableau LV donne les coefficients de corrélation entre les clusters et sérums anti-Ia et le typage LD (CHI-2 > 3,84).

Ce premier tableau fait apparaître que le cluster C1 ainsi que les sérums qui y sont rattachés sont corrélés avec LD 2 ; remarquons, dès à présent, que cette corrélation était prévisible, du fait que les sérums 1823 et 1979 ont été faits

TABLEAU LV - Coefficients de corrélation Ia-LD:

LD	1	2	3	4	5	6	7	8	9
C1	.	.53	.	.	.	.51	.	.	.
C2	.54	.	.	.	.	.	.	.	.
C3	.	.	.	.	.	.44	.	.	.
C4	.	.	.26	.	.	.	.	.	.
1736	.	.	.	.	.	.	.	.	.
40261	.	.25	.	.	.	.	.	.	.
40262	.	.38	.	.	.	.45	.	.51	.
41371	.	.	.	.	.	.	.	.	.
41372	.	.31	.	.	.	.	.	.	.
1823	.	.35	.	.	.	.	.	.	.
1979	.	.34	.	.	.	.	.	.	.
1311	.46	.	.	.	.	.	.	.	.
1553	.45	.	.	.	.	.	.	.	.
1743	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1963	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1679	.	.	.	.	.	.	.	.	.
17401	.	.	.	.	.	.	.	.	.
17402	.	.	.	.	.	.	.	.	.
14781	.	.	.	.	.	.	.	.	.
14782	.	.	.	.28	.	.50	.	.	.
15261	.	.	.	.	.	.37	.	.	.
15262	.	.	.49	.	.	.	.	.	.
1738	.	.	.	.	.	.	.	.	.
40131	.	.	.	.	.	.37	.	.	.
40132	.	.	.25	.	.	.	.	.	.
4125	.	.	.	.	.	.	.	.	.

contre un porc possédant l'allèle LD 2 et que nous avons vu que la spécificité Ia 4 reconnue par les sérums 4026 et 4137, ainsi que le C1, possédait quelque chose de commun avec la spécificité Ia 2 reconnue par les premiers sérums.

La seconde observation est que le cluster C2 est corrélé avec LD 1. Il est à noter, enfin, que la corrélation notable qui existe entre les sérums 1553 et 1311 d'une part, et le LD 1 d'autre part, peut s'expliquer par la forte fréquence de ces sérums, qui incluent le C2, 1743 et 1963, et leur immunisation par un haplotype LD 1 (d'une autre origine).

N.B. : On a pu remarquer, en observant le tableau, la corrélation positive qui existe entre le LD 6 et les clusters C1 et C3. Nous éliminerons, dès à présent, cette donnée, le nombre de cellules ayant été testées avec l'homozygote LD 6 en MLR étant trop faible (en ce qui concerne les cellules utilisées dans notre expérimentation) pour que cette donnée soit considérée comme significative.

Par ailleurs, nous pouvons observer que le cluster C3 (Ia 17) n'est corrélé de façon correcte à aucun LD. Ceci est compréhensible du fait que parmi les homozygotes servant à typer les cellules en MLR, aucun n'est LD 17. En effet, si la spécificité LD 17 a bien été isolée sur un porc SD 17, le laboratoire ne possédait lors du typage aucun porc homozygote pour la spécificité LD en cause.

Enfin, la dernière observation que l'on peut faire est la corrélation positive significative qui existe entre d'une part le cluster C4, le sérum 40132 et la spécificité LD 3.

Nous ferons la même remarque quant au prévisible de l'observation, l'haplotype immuniseur d'origine possédant la spécificité LD 3.

Remarquons la bonne corrélation du sérum 1526 avec le LD 3, observation à rapporter à celle faite précédemment quant à la relation déjà notée entre ce sérum et le C3.

ETUDE APPROFONDIE DES RELATIONS EXISTANT ENTRE LES CLUSTERS, LES SERUMS ANTI-Ia ET LES SPECIFICITES LD

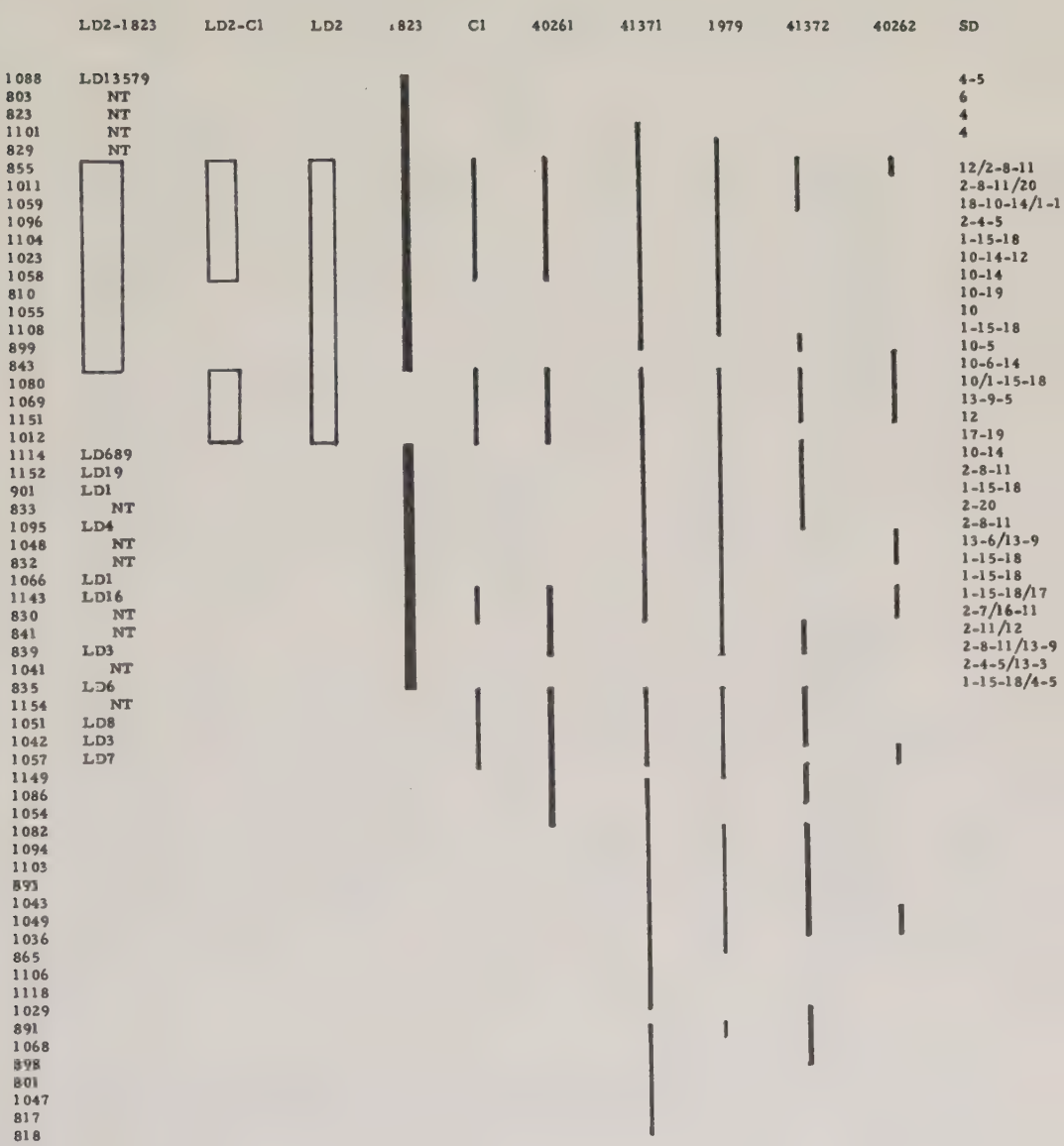
Les tableaux LVI à LIX nous permettent d'émettre quelques hypothèses quant aux relations immunogénétiques qui existent entre les spécificités reconnues par nos sérums et les spécificités LD.

N.B. : sur les tableaux LVI à LIX sont notées les caractéristiques SD des cellules ; celles-ci ne seront envisagées dans la discussion que par la suite.

Dans le premier tableau (LVI), nous avons rassemblé les cellules reconnues par le cluster C1 et les sérums qui lui sont rattachés. Ces résultats sont comparés avec les données LD. Les hypothèses émises précédemment quant à la relation existant entre les spécificités Ia 2 et Ia 4 semblent se confirmer ; en effet, si l'on compare les communautés LD 2 - C1 - 1823, LD2 - 1823 et LD 2 - C1 - 40262, on peut noter les conclusions suivantes : la partie commune peut correspondre à la relation (liaison ou spécificité publique commune ?) qui existe entre les régions Ia 2 et Ia 4. On peut penser que le sérum 1823 reconnaît bien la spécificité Ia 2 (partie commune avec Ia 4 et spécificité privée). L'activité du sérum 40262 correspondrait alors à la partie privée du Ia 4, ce sérum étant en opposition avec le 1823. Les sérums 4026 et 41371 reconnaîtraient alors la partie commune et la spécificité privée Ia 4.

Il est à noter que les cellules se situant en bas du tableau sont des cellules pour lesquelles l'activité des sérums est souvent peu reproductible ; ce phénomène pourrait corres-

TABLEAU LVI



NT : non-testé en LD.

pondre, comme cela a été observé en sérologie SD, à des réactions croisées des sérums, beaucoup plus sujettes aux aléas expérimentaux ; les réactions spécifiques des sérums sont le plus souvent bien reproductibles.

Tableau LVII :

Ce tableau nous permet de comparer la spécificité LD 1 aux spécificités reconnues par le C2 et les sérums 1743, 1963 et 1311. Le 1553 n'a pas été représenté car il présente pratiquement la même réactivité que le sérum 1311. Ce tableau confirme la corrélation qui existe entre le LD 1 et le C2. Le sérum 1743 semble le plus proche du C2 et est donc vraisemblablement le plus spécifique. La complexité des sérums 1311 et 1553, qui incluent pratiquement les deux autres sérums, est elle aussi confirmée. Enfin, on peut remarquer qu'une partie du C2 n'est pas corrélée au LD 1 (définit-elle une autre spécificité ?) et qu'une partie des cellules LD 1 sont plutôt reconnues par le C1 et les sérums du même groupe.

Tableau LVIII :

Ce tableau permet la comparaison entre les divers composants du groupe rattachés à la spécificité Ia 17. L'absence d'homozygote LD 17 nous a fait rechercher une éventuelle corrélation entre le C3 et une spécificité LD mieux connue. Comme le montre le tableau, celle-ci ne semble pas exister. Qaunt au sérum 1526, il semble reconnaître une spécificité tantôt associée au C3 (LD 17 ?), tantôt à LD 3 (cf. tableau LIX).

Tableau LIX :

Ce dernier tableau nous permet l'étude des relations existant entre le C4, les sérums du même groupe et la spécificité LD 3.

Le sérum 1736, dirigé contre un haplotype possédant le LD 2-11, semble bien isolé malgré une inclusion dans le C4,

TABLEAU LVII

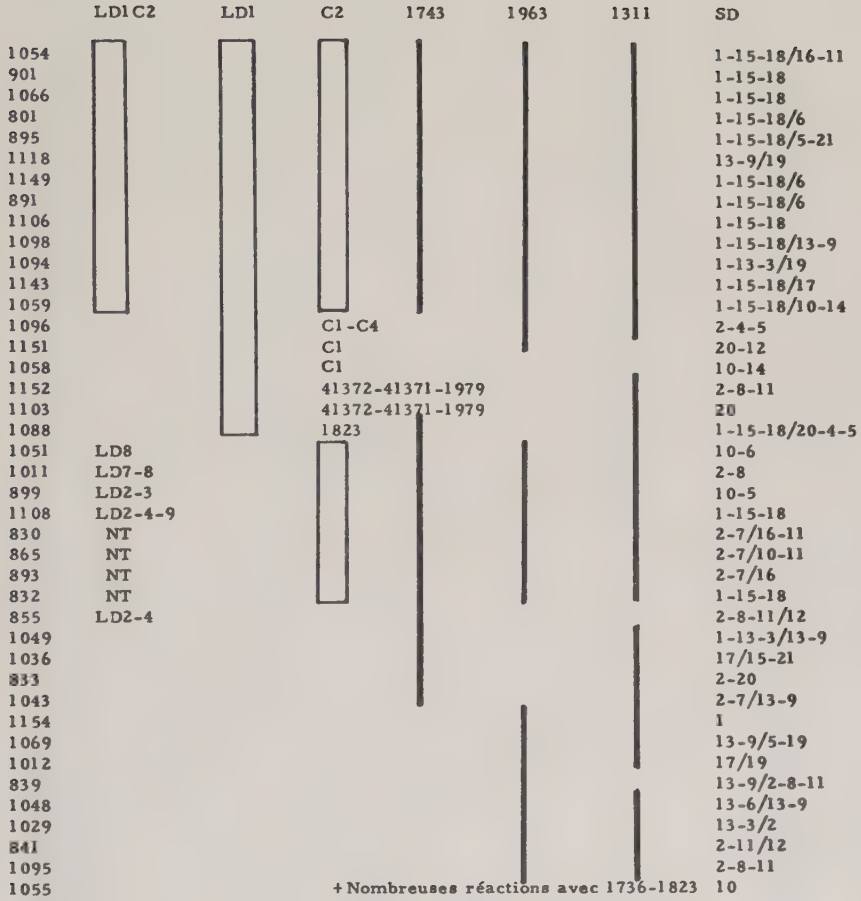
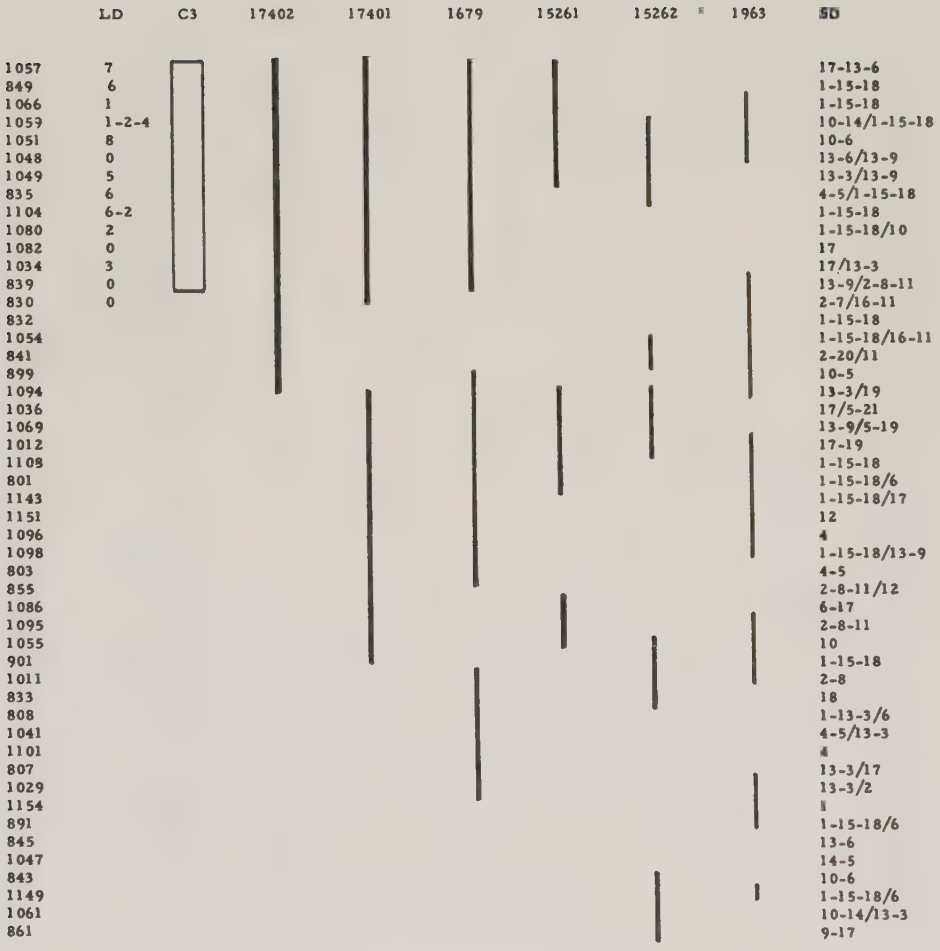
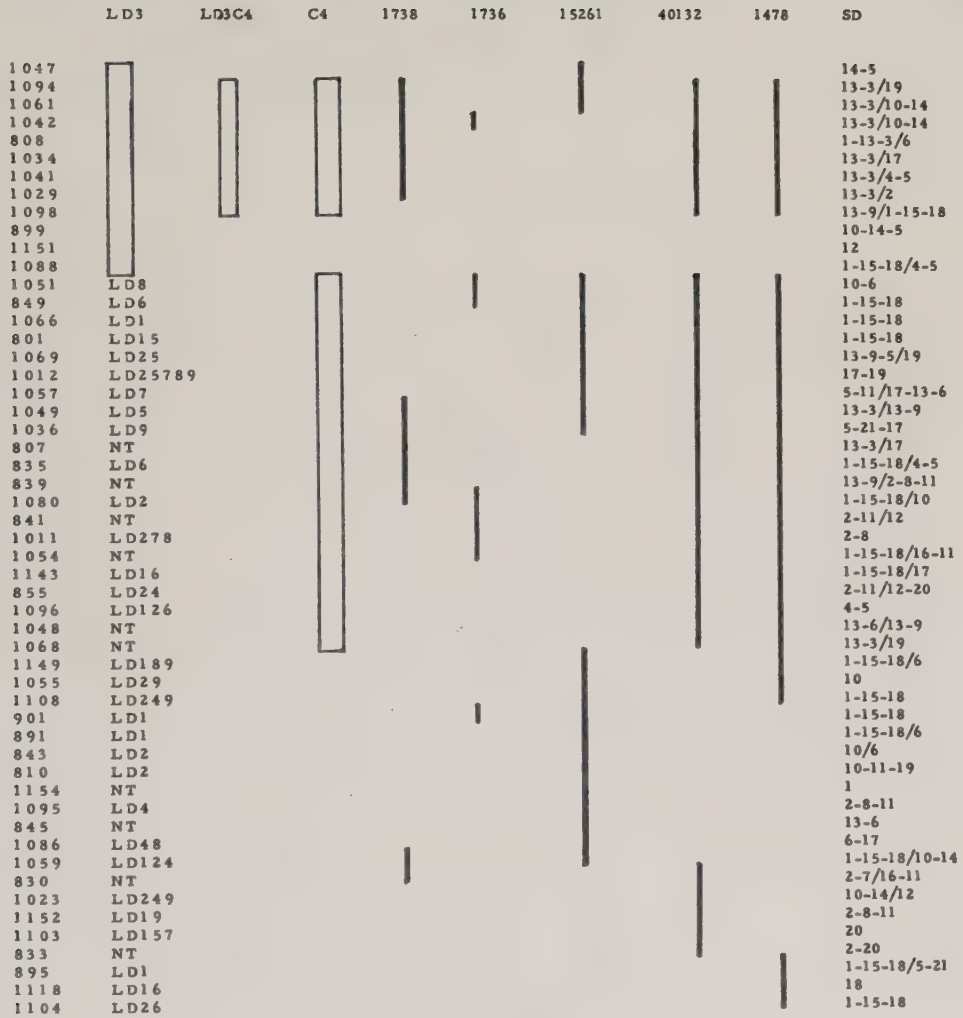


TABLEAU LVIII



N. B. : 0= non testé en culture mixte.
Il n'existe pas d'homozygote LD17 identifié

TABLEAU LIX


LD3
LD3C4
C4
1738
1736
15261
40132
1478
SD
1047 14-5
1094 13-3/19
1061 13-3/10-14
1042 13-3/10-14
808 1-13-3/6
1034 13-3/17
1041 13-3/4-5
1029 13-3/2
1098 13-9/1-15-18
899 10-14-5
1151 12
1088 1-15-18/4-5
1051 LD8 10-6
849 LD6 1-15-18
1066 LD1 1-15-18
801 LD15 1-15-18
1069 LD25 13-9-5/19
1012 LD25789 17-19
1057 LD7 5-11/17-13-6
1049 LD5 13-3/13-9
1036 LD9 5-21-17
807 NT 13-3/17
835 LD6 1-15-18/4-5
839 NT 13-9/2-8-11
1080 LD2 1-15-18/10
841 NT 2-11/12
1011 LD278 2-8
1054 NT 1-15-18/16-11
1143 LD16 1-15-18/17
855 LD24 2-11/12-20
1096 LD126 4-5
1048 NT 13-6/13-9
1068 NT 13-3/19
1149 LD189 1-15-18/6
1055 LD29 10
1108 LD249 1-15-18
901 LD1 1-15-18
891 LD1 1-15-18/6
843 LD2 10/6
810 LD2 10-11-19
1154 NT 1
1095 LD4 2-8-11
845 NT 13-6
1086 LD48 6-17
1059 LD124 1-15-18/10-14
830 NT 2-7/16-11
1023 LD249 10-14/12
1152 LD19 2-8-11
1103 LD157 20
833 NT 2-20
895 LD1 1-15-18/5-21
1118 LD16 18
1104 LD26 1-15-18

qui peut s'expliquer du fait de la grande fréquence de ce cluster. Les sérums 1478 et 4013 sont associés suivant les cas aux spécificités LD 3, 4 ou 6, ce qui confirme leur polyvalence déjà constatée précédemment. Le 1738 semble bien associé au C4, mais très mal corrélé au LD 3. Ce sérum, nous en avons déjà fait la remarque, est difficile à interpréter du fait de sa réactivité peu franche, souvent située entre 40 et 70 % de lyse.

b) Comparaison Ia-LD-SD

Cette comparaison, permise par l'étude du tableau LX et des tableaux LVI à LIX, nous permet de poser d'éventuelles hypothèses quant à la situation des Ia sur l'haplotype par rapport aux SD et LD. En effet, il existe, nous le savons, un déséquilibre de linkage entre certaines spécificités LD et certaines spécificités SD. Il apparaît, bien évidemment, que toute relation préférentielle entre certains Ia, certains LD et certains SD (il est hasardeux, a priori, de parler de déséquilibre de linkage) peut nous permettre d'avancer des hypothèses quant à la situation des Ia sur l'haplotype, et l'ordonnancement de ces trois "régions" géniques sur l'haplotype.

L'étude du tableau LVI nous permet déjà de constater la relation qui existe entre la spécificité définie par le C1, et les sérums du groupe avec les spécificités LD 2 et SD 10. Pour ce qui est de la spécificité SD 12, il apparaît qu'un seul porc possédant cette spécificité n'est pas reconnue par les sérums du groupe dans leur partie commune. Malgré la faible fréquence du SD, l'association semble marquée. Enfin, on peut constater que la spécificité "Ia 12", malgré un haplotype immuniseur SD 12 - LD 4, n'est jamais associée au LD 4 (spécificité associée au SD 12), ce qui indiquerait que la région chromosomique contenant le Ia 12 se situerait plutôt à proximité du SD que du LD.

TABLEAU LX - Coefficients de corrélation Ia-SD:

SD	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
40261	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.25.	.	.	.	.	.	.	.	.
40262	.	.	.	.	.	.34.	24.	.	.	.	.	.40.	.	.30.	.	.	.	.	.	.
41371	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
41372	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1736	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.27.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1823	.	.	.	.35.	.	.	.32.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1979	.	.30.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1311	.26.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.32.	.	.	.	.	.
1553	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1743	.48.	.	.	.	.	.32.	.	.	.	.	.	.	.	.	.52.	.	.32.	.		
1963	.32.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.36.	.	.	.	.	.
1679	.	.	.	.24.	29.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
17401	.25.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
17402	.24.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
14781	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
14782	.	.	.37.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.39.	.	.	.	.	.	.	.
15261	.	.	.	.	.	.40.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
15262	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1738	.	.	.64.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.56.	.	.	.	.	.	.	.
40131	.	.	.27.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.25.	.	.	.	.	.	.	.
40132	.	.	.37.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.39.	.	.	.	.	.	.	.
4125	.	.	.24.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

L'étude du tableau LVII nous permet de noter l'association préférentielle LD 1, IA 1 (C2) et SD 1, particulièrement avec le groupe SD 1-15-18, et secondairement avec le groupe 1-13-3. Le déséquilibre de linkage, observé entre SD 1-15-18 et LD 1 par VAIMAN et al., semble pouvoir s'étendre à la spécificité Ia 1.

Pour ce qui est du tableau LVIII, nous noterons simplement la grande fréquence du SD 17 au sein des cellules reconnues par le groupe du C3 (Ia 17).

Enfin, l'étude du tableau LIX nous fait souligner la forte fréquence du SD 3 et du SD 13 au sein des cellules reconnues par les sérums du C4, mais ne nous autorise pas à conclure sur la liaison Ia 3 (C4), préférentiellement avec SD 3 ou SD 13, dont il faut savoir par ailleurs qu'elles sont situées à des loci différents et qu'elles sont en déséquilibre de linkage. Notons, pour terminer, l'association fréquente du sérum 1526 à la spécificité SD 6.

3. Comparaison des résultats dans les familles et chez les porcs non-apparentés

Les sérums utilisés pour notre expérimentation ont été auparavant testés dans des familles de porcs (Tableau LXI). Entre temps, ils ont été purifiés, notamment à l'égard des groupes sanguins, et des réactions ne suivant pas l'haplotype.

Il est possible de comparer les résultats obtenus dans les deux cas par une étude comparée des coefficients de corrélation reliant sérum à sérum (se reporter également au tableau LII).

Les quelques observations que l'on a pu faire sont les suivantes :

TABLEAU LXI - Coefficients de corrélation entre les sérums anti-DR dans les familles (Chi-2 supérieur à 3,84):

	40262	41371	41372	1736	1823	1979	1311	1553	1743	1963	1679	17401	17402	14781	14782	15261	15262	40131	40132	4125
40261	.40	.26			.25															
40262																				.34
41371			.46				.24	.32												
41372				.28																
1736						.49														.29
1823																				
1979																				
1311							.58	.31			.24							.29		
1553									.36					.24	.25			.22		
1743										.41										
1963																				
1679											.33	.37			.34			.40		.37
17401												.81			.35			.30	.27	.43
17402															.38			.27	.35	
14781															.53				.24	
14782																		.62	.40	.31
1738																			.32	.31
15261																	.55			
15262																			.28	.31
40131																				.47
40132																				

. Le sérum 1823 n'est pas, dans les familles, corrélé au 1979 ; la purification qu'il a subi entre les deux séries de tests a certainement rendu son spectre d'activité plus étroit, et donc plus spécifique.

. Les sérums 1979, d'une part, et les sérums 40261 et 41371 sont bien corrélés dans les porcs non-apparentés, pas du tout dans les familles. Il semble que les familles envisagées ne possèdent pas les caractères associant Ia 2 à Ia 4, représentés par le C1.

. Le sérum 1740 a été amélioré par la purification, ceci étant montré par de meilleurs coefficients de corrélation et une meilleure reproductibilité, mais manifeste encore un effet de zone difficile à interpréter.

. Le groupe des anti-Ia 3 est mieux corrélé chez les porcs non-apparentés, notamment entre les sérums 14782 et 4013, permettant des résultats plus homogènes pour le groupe C4.

Conclusion

L'étude des Ia, chez le porc, est facilitée par la possibilité d'obtenir des recombinants dans les familles. S'agissant de portées nombreuses, on a la possibilité, lorsqu'un porcelet recombinant existe, de faire des immunisations entre frères ne différant que par une région SLA limitée.

Finalement, 16 sérums anti-DR ont pu être produits, plusieurs l'ayant été contre la même région. Il est important, en effet, de produire plusieurs réactifs contre un même antigène, car l'expérience montre que la réponse immunitaire varie d'un animal à l'autre et que chaque sérum possède ses propres caractéristiques.

L'analyse des sérums Ia sur un panel de 71 cellules de porcs non-apparentés, a permis de mettre en évidence un certain nombre de spécificités, bien que les coefficients de

corrélation entre sérums d'un même groupe ne soient pas très élevés. Ce dernier point nécessite une interprétation : les sérums produits sont, pour la plupart, polymorphes, ce qui peut être attribué à la fois à la complexité des structures reconnues et aussi à la complexité de la réponse immune elle-même. Un deuxième élément intéressant sur la fiabilité des tests est que nous avons travaillé sur des cellules décongelées, et qui ont subi un nombre important de manipulations destinées à l'enrichissement des sous-populations présentant les antigènes DR.

Quatre spécificités principales ont été décelées, DR 1, DR 2, DR 3 et DR 4. DR 1 et DR 2 se comportent comme des allèles, alors que la relation semble moins claire pour DR 3 et DR 4.

L'étude spécifique des quatre antigènes a permis de vérifier qu'il existe un fort déséquilibre de linkage entre la région SD et la région D-DR, l'association la plus forte étant détenue par l'haplotype A15 B18 C1, qui est l'haplotype le plus fréquent dans la race Large-White.

CONCLUSION

Un complexe d'histocompatibilité majeur se caractérise d'abord par son influence essentielle sur les phénomènes de rejet des greffes. En effet, dans toutes les espèces où des recherches approfondies ont été effectuées sur cette question, il s'est avéré que le rejet des greffes était contrôlé, pour une grande partie, par un complexe de ce type.

L'application la plus importante des connaissances acquises dans ce domaine est, bien entendu, l'utilisation du typage HLA pour choisir donneur et receveur en chirurgie humaine.

Cependant, la transplantation d'organe ne peut prétendre représenter une finalité biologique ; le rôle biologique "normal" du complexe majeur d'histocompatibilité doit donc être recherché ailleurs, en analysant les données disponibles. Nous avons rapporté son intervention dans de nombreux mécanismes de l'immunologie, concernant la défense de l'organisme : la réponse immunitaire de type humoral, la réponse immunitaire à médiation cellulaire, les phénomènes de coopération au cours de cette réponse immunitaire sont contrôlés par des gènes situés dans le complexe. Le maintien de ce complexe au cours de l'évolution, le maintien du polymorphisme même dans des populations consanguines, le nombre plus élevé d'hétérozygotes chez les sujets âgés d'une même population (traduisant un effet d'hétérosis avantageux pour les hétérozygotes), sont des éléments qui tendent à indiquer que ce système joue un rôle de défenseur de l'organisme.

L'observation, dans plusieurs espèces, d'associations entre certaines maladies et le complexe majeur d'histocompatibilité est un fait biologique marquant ; chez la souris, la présence d'un gène contrôlant la susceptibilité au virus de

Gross a été démontrée dès 1966 (LILLY) ; des recherches sur d'autres virus ont également montré la présence de gènes de susceptibilité, ou simplement des différences de sensibilité entre lignées, et on parle alors d'association. Chez le poulet, la sensibilité à la maladie de Marek est influencée par le complexe B et une association avec une thyroïdite auto-immune a été démontrée. Chez le cheval, le niveau de la réponse à la toxine tétanique pourrait être associée au C.M.H. Mais c'est chez l'homme que l'abondance des résultats récents est remarquable. De nombreuses maladies semblent associées au HLA (cf. Tableau LXII, d'après DAUSSET, 1977) ; cependant, il est impossible de définir les critères, de définir un "portrait" de ces maladies ; certaines présentent un caractère auto-immunitaire, d'autres non ; en aucun cas un agent infectieux connu ne semble intervenir ; le plus souvent d'origine mystérieuse, ces maladies sont par ailleurs à pénétrance incomplète. Ces associations ont permis dans certains cas de mieux classer les maladies et, d'autre part, de faciliter leur dépistage et leur diagnostic ; c'est une conséquence pratique qui revêt donc une importance indéniable en médecine.

Les mécanismes dont dépend la susceptibilité accrue à certaines maladies sont à l'heure actuelle inexpliqués ; seules des hypothèses de travail ont été formulées : il est vraisemblable que les molécules gouvernés à la surface des cellules par le C.M.H. sont des marqueurs d'une sensibilité extrême par lesquels les cellules d'un même organisme se reconnaissent. Par corollaire, toute modification de ces marqueurs doit entraîner une réaction de défense, la molécule étant reconnue comme "étrangère".

Ce schéma s'applique de manière évidente au cas des greffes, mais des résultats expérimentaux montrent qu'ils pourraient aussi être valables pour des virus, et ce phénomène a reçu le nom de restriction H2 : des cellules T, sensibilisées par le virus de la variole par exemple, sont capables de tuer

TABLEAU LXII - Les associations les mieux établies entre HLA et les maladies. (D'après DAUSSET, 1977.)

	Maladie	Antigène	Fréquences antigèniques		
			contrôles %	malades %	risque relatif
1ère Catégorie maladies très associées à HLA-B	ARTHROPATHIES				
	Spondylarthrite ankylosante	B27	4 à 8	90	120
	Syndrôme de Reiter	B27	-	76	40,3
	Arthrite rhumatismale juvénile	B27	-	47	11,5
	Rhumatisme psoriasique	B27	-	27	4,7
2ème Ctégorie maladies fortement associées à HLA-B et HLA-D	Rhumatisme chronique	DW4	15	68	
	MALADIES AUTO-IMMUNES ET ENDO--CRINIENNES.				
	Myasthénie	B8	14 à 25	45	4,4
	Hépatite active chronique	B8(DW3)	-	37	3,6
	Maladie de Basedow	B8(DW3)	-	37	3,5
	Maladie d'Addison	B8(DW3)	-	80	6,4
	Diabète juvénile	B8(DW3)	-	54	2,1
		BW15(DW4)	12	36	3,0
		B18	13	25	2,3
	MALADIES GAS--TRO-INTESTINALES				
	Maladie coeliaque	B8	14 à 25	57	8,3
	Dermatite herpétiforme (souvent associées)	B8	-	60	4,3
	MALADIES NEUROLOGIQUES				
	Sclérose en plaques	B7	33	42	1,4
	MALADIES DE LA PEAU				
	Psoriasis	BW17	7	26	5,0
		B13	5	19	4,8
		BW37	1 à 2	6	6,3
	Maladie de Behçet	B5	13	71	16,4

TABLEAU LXII - (suite):

3ème Catégorie maladies associées à un gène non HLA mais présent dans le complexe HLA	MALADIES HEPATIQUES				
	Hémochromatose idiop.	A3	25	77	8,3
		B14	3	25	9,2
	DEFICITS IMMUNITAIRES				
	C2 Homozygote	Aw25, B18 DW2	(haplotype fréquem-(-ment incriminé)		

spécifiquement non pas des cellules infectées par d'autres virus, ni même des cellules infectées par le même virus et différant par les antigènes H2-K et D, mais uniquement des cellules infectées par ce virus et histocompatibles. Le même type de restriction, mais cette fois pour la région I, a été rapporté pour la réponse immunitaire contre une bactérie. Ces résultats, et ceux relatés dans l'étude du complexe B, confirment l'importance du C.M.H. dans les mécanismes cellulaires au cours de la réponse immunitaire, qui doit être envisagée comme le résultat d'un équilibre entre plusieurs mécanismes ; la défaillance d'un seul de ces mécanismes peut entraîner un dysfonctionnement de la réponse immunitaire. Enfin, on peut rappeler ici le contrôle partiel du C.M.H. sur le niveau du complément.

Il existe un cas où le rôle de défense du non-soi des antigènes d'histocompatibilité semble contradictoire, c'est le cas de la fécondation et de la gestation. En effet, le foetus peut être considéré, d'un point de vue immunologique, comme une greffe semi-allogénique (haplo-identique) ; or, cette greffe survit et la gestation se déroule normalement, alors que le foetus est doué de propriétés immunogènes et que la mère est capable de développer une réponse immunitaire. Contradictoirement, diverses études tendent à prouver que la fertilité ou la croissance foetale sont d'autant plus favorisées que les incompatibilités tissulaires foeto-maternelles sont grandes. Certains auteurs interprètent ces faits comme l'expression d'un effet sélectif favorable à l'hétérozygote et expliquant le maintien du polymorphisme.

Si tous ces faits expérimentaux ne peuvent encore être analysés synthétiquement, ils contribuent cependant à souligner le rôle vraisemblablement fondamental du C.M.H. dans la biologie des espèces ; le domaine de l'histocompatibilité se présente actuellement comme un des domaines d'investigations les plus prometteurs, et son développement ne cesse de s'inten-

sifier. Dans ces conditions, les recherches dans les espèces d'intérêt zootechnique méritent d'être approfondies. En effet, outre les domaines de la pathologie et de la reproduction où le C.M.H. joue vraisemblablement un rôle analogue à celui de l'homme, on est en droit aujourd'hui d'espérer la découverte de liaisons du C.M.H. avec des aptitudes physiologiques et zootechniques pouvant déboucher dans l'avenir sur des applications très attendues.

BIBLIOGRAPHIE:

ABBASI K. et al., 1973. Mouse mixed lymphocyte reactions and cell mediated lympholysis: genetic control and relevance to antigenic strangth.
Transplant. Proc., 5, 1329-1338.

ALBERT, E. D., ERICKSON V. M., GRAHAM T. C., PARR M., TEM--PLETON J. W. , MICKEY M. R., THOMAS E. D., STORB R. 1973 Serology and genetics of the DLA system I Establishement of specificities.
Tissue antigens, 3, 417-430.

ALBERTINI R. J., BACH F. H., 1968. Quantitative assay of antigenic disparity at HLA. The Maj or Histocompatibility locus in man.
J. exp. Med., 128, 639-651.

ALLEN S. L., 1955. Linkage relations of the genes histocompatibili--ty- 2 and fused Tail, Brachury and kinky tail in the mou--se, as determined by tumour transplantation.
Genetics, 40, 627-650.

ALLEN F. H., 1974. Linkage of HLA and GBG.
Vox. Sang., 27, 384-382.

ALTER B. J. et al. 1973. Cell mediated lympholysis: importance of serologically defined H2 regions.
J. exp. Med., 137, 1303-1309.

AMOS D. B., 1953 . The agglutination of mouse leucocytes by iso-im--mune sera .
Br. J. Exp. Pathol. , 34, 464-470.

ARNOUX B., CHARDON P., RENARD Ch., VAIMAN M. , HAAG J., 1974.
Isolement de deux antigènes d'histocompatibilité SLA du porc et caractérisation biochimique.?
C. R. Acad. Sci. Paris, Série D, 279, 1817-1820.

BACH F. H., HIRSCHORN K., 1964 . A potential histocompatibility test in vitro.
Science, 142, 813-814.

BACH F. H., WIDMER M. B., BACH M. L., KLEIN J., 1972. Sero--logically defined and lymphocyte defined components of the major histocompatibility complex in mouse.
J. Exp. Med., 136, 1420-1444.

BACH J. F., 1976. Lymphocytes B et T
Immunologie, (Ed. Flammarion Med. Sci.), Ch. 4, 74-82.

BAILEY E., 1978. Linkage between the A blood group system and the lymphocyte antigens controlling locus.
2nd. Bovine Histocompatibility Workshop. Edinburgh 1978 (Soumis pour publication).

BAIN B., VAS M.R., LOWENSTEIN L., 1964. The development of large immature mononuclear cells in mixed leucocyte culture.
Blood., 23, 108-116.

BALCAROVA J., HALA K., HRABA T., 1973. a. Diffrences in the intensity of antibody formation to different antigens in im--bred lines of chickens.
Folia biol. (Praha), 19, 329-336.

BALCAROVA J., HALA K., HRABA T., 1973. b. Differences in antibody formation to the dinitrophenol group in imbred lines of chickens.
Folia biol. (Praha), 19, 19-24.

BALCAROVA J., MEDLIN J., HALA K., HRABA T., 1974. Immu--ne response to pneumococcal polysaccharide in imbred lines of chickens.
Folia biol. (Praha), 20, 221-224.

BALNER H., DERSJANT H., VAN ROOD J.J., 1965. Leukoagglutinating iso-antibodies in rhesus-monkeys.
Transplantation, 3, 402-422.

BALNER H., VAN LEEUWEN A., DERSJANT H., VAN ROOD J.J., 1967. Defined leucocyte antigens of chimpanzees. Use of chimpanzee isoantisera for leucocyte typing in man.
Transplantation, 5, 624-642.

BALNER H. et al., 1971. Leucocyte antigens of rhesus-monkeys (RhLA) and chimpanzees (ChLA): similarities with the hu--man HLA system.
Tissue antigen., 1, 229-238.

BALNER H., VAN VREESWIJK W., DE GROOT M.L., D'AMARO J., 1974a. The major histocompatibility complex of rhesus--monkeys: IV - Serologic identification of several new antigens of both series of RhLA.
Transpl. Proceed., 6, 111-117.

BALNER H., D'AMARO J., VISSER T.P. 1974b. Tissue typing of chimpanzees I- Evidence for two allelic series of leukocytes antigens.
Transpl. Proceed., 6, 141-149.

BALNER H. et al., 1974c. Evidence for two linked loci controlling the serologically defined leucocyte antigens of chimpanzees (ChLA).
Tissue antigens., 4, 313-328.

BALNER H., VAN VREESWIJK W., ROGER J.H., 1976. Ia-like an--tigens of rhesus-monkeys: Current state of serology and genetics.
Transpl. Rev.,30, 3-17.

BAUER J.A., 1960. Genetics of skin transplantation and an estimate of the number of histocompatibility genes in imbred guinea pigs.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 87, 78-92.

BENACERRAF B., Mc DEWITT H.O., 1972. Histocompatibility linked immune response genes.
Science, 175, 273-279.

BENACERRAF B.; 1972. Genetic control of immune responsiveness. The celular locus of action of histocompatibility linked Ir genes.
Academic Press. N.Y. Eds McDEWITT H.O.; LANDY M. p.18.

BOGDEN A.E., APTEKMAN P.M., 1960. The "R-1" factor a histo--compatibility antigen in the rat.
Cancer Res., 20, 1272-1282.

BOROVSKA M., DEMANT P., 1967. Specificity of cytotoxic anti--bodies in typing sera against cattle blood group antigens.
Fol. Biol., 13, 473.

BOYER G., 1960. Chorioallantoic membrane lesions produced by ino--culation of adult fow l leucocytes.
Nature, 185, 327-328.

BOYUM A., 1968. Separation of leucocytes from blood and bone mar--row.
Scand. J. Clin. Lab. Invest., 21, suppl. 97.

BRILES W.E., McGIBBON W.H., 1948. Heterozygosity of imbred lines of chickens at two loci effecting cellular antigens.
Genetics, 33, 605.

BRILES W.E., STONE H.A., COLE R.K., 1977. Marek's Disease: effects of B histocompatibility alloalleles in resistant and susceptible chicken lines.
Science, 195, 193-195.

BRILES W.E., Mc GIBBON W.H., IRWIN M.R., 1948. Studies of the time of development of celular antigens in the chicken.
Genetics, 33, 605.

BRONDZ D.B., EGOROV J.G., DRIZLIKH G.I., 1975. Private speci--ficities of H-2K and H-2D loci as possible selective targets for effector lymphocytes in cell-mediated immunity.
J. Exp. Med., 141, 11-26.

CAPCOVA J., DEMANT P., 1974. Genetic studies of the H2 associa--ted complement gene.
Folia Biol. (Praha)., 20, 101-115.

CHANH T.C., BENEDICT A.A., ABPLANAL P., 1976., Association of serum hemolytic complement levels with the major his--tocompatibility complex in chickens.
J. Exp. Med., 144, 555-561.

CHARDON P., VAIMAN M., RENARD Ch., ARNOUX B., 1977. Pre--sence of soluble SLA histocompatibility antigen in pig plas--ma.
Anim. Blood Grps Biochem. Genet., 8, 139-148.

CHARMOT D., MAWAS C.E., SASPORTES M., 1975. Secondary response of in vitro primed human lymphocytes to allogenic cells. II-Role of HLA, MLR stimulating determinants and non specific mitogens in the genration of secondary cytotoxic effectors.
Immunogenetics, 2, 465-483.

CHRISTEN Y., 1975. Compatibilité donneur-receveur: des tests plus précis.
La Recherche n 53. Fèv. 75, 171.

COHEN C., TISSOT R.G., 1974. The effect of the RLA locus and the MLC locus on graft survival in the rabbit.
Transplantation, 18, 150-154.

COLOMBANI J., 1975. Immunogénétique du complexe majeur d'histo--compatibilité (H2) de la souris.
Bull. Inst. Pasteur., 73, 305-356.

COLOMBANI J., 1978a. Le modèle murin: H2. In: Le complexe prin--cipal d'histocompatibilité de l'homme (HLA).
Cours supérieur d'histocompatibilité. J. DAUSSET Organi--sateur. Janvier 1978.

COLOMBANI J. 1978b. Spécificités HLA-DR. In: Le complexe prin--cipal d'histocompatibilité de l'homme (HLA).
Cours supérieur d'histocompatibilité. J. DAUSSET Organi--sateur. Janvier 1978.

COLOMBANI J. et al. 1975. A lymphocyte and platelet complément fixation microtechnique for the study of H2 region and I region associated antigens.
Transplant., 20, (1), 84-88.

COLOMBANI J. et al. 1976. Separation of anti-Ia from anti-H2 anti--bodies in complex sera, by absorption on blood platelet. Description of three new Ia specificities.
Tissue-antigens, 7(2), 74.

COUNCE S., SMITH P., BARTH R., SNELL G.D., 1956. Strong and weak histocompatibility differences in mice and their role in the rejection of homografts of tumors and skin.
Ann. Surg., 144, 198-204.

CRAMER D.V., SHONNARD J.W., DAVIS B.K., GILL T.J., 1977. III-Polymorphism of the mixed lymphocyte response of wild norway rats.
Transplant. Proceed., 9, 559-562.

CROSIER P.S., 1977. HLA-D clusters using in vitro primed lympho--cytes.
Tissue antigens., 10, 337-342.

CULLEN S.E. et al. 1974. Membrane molecule determined by the H2 associated immune responde region: isolation and some propertie s.
Proc. Nat. Acad. Sci., 71, 648-653.

CULLEN S.E. et al., 1975. Evidence that protein determines Ia anti--genic specificity.
Transplant. proceed., 7, (suppl. 1), 237.

CULLEN S. E., FREED J., NATHENSON S. G., 1976. Structural and serological properties of murine IA alloantigens. Transplantation Reviews, 30, 236-271.

CURMAN B., et al., 1975. H2 linked Ss protein is C_4 component of complement. Nature., 258, 243-248.

DAUSSETJ., 1958. Iso-leuco-anticorps. Acta. Hematol. (Basel), 20, 156-158.

DAUSSET J., RAPAPORT F. T., CANNON F. D., FERREBEE J. W. 1971. Histocompatibility studies in a closely bred colony of dogs. III-Genetic definition of the DLA system of canine histocompatibility, with particular reference to the compa--rative immunogenicity of the major transplantable organs. J. Exp. Med., 134, 5, 1222-1237.

DAUSSET J., 1976. Le Complexe HLA. Parties 1, 2, 3 et 4. La Nouvel. Pres. Méd., nos 20 à 23.

DAUSSET J., 1977. Le système HLA et les maladies. La Recherche. vol. 8, 335-343.

DAUSSET J., 1978. Les séries aalèliques HLA(A, B, C). In: Le com--plexe principal d'histocompatibilité de l'homme (HLA) Cours supérieur d'histocompatibilité. J. DAUSSET Orga--nisateur. Janvier 1978.

DAUSSET J., NENNA A., 1952. présence d'une leuco-agglutinine dans le sérum d'un cas d'agranulocytose chronique. C. R. Soc. Biol. (Paris), 146, 1539-1541.

DAVID C. S., SHREFFLER D. C., 1974a. Lymphocyte antigens con--trolled by the Ia region of the mouse H2 complex. Detec--tion of new specificities with anti-H2 reagents. Transplant., 17, 462-469.

DAVID C. S., SHREFFLER D. C., 1974b. I region associated antigen system (Ia) of the mouse H2 gene complex. Further defi--nition of Ia specificities with restricted anti-Ia antisera. Transplant., 18, 313-321.

DAVIES D. A. L., HESS M., 1974. New alloantigen genetically linked to the major histocompatibility locus of the mouse. Nature (Land)., 250, 228-230.

DEBRE P., 1978. Physiologie de la coopération cellulaire etdes genes de réponse immunologique. In: Le complexe principal d'HIS--TOCOMPATIBILITE de l'homme (HLA). Cours supérieur d'histocompatibilité. J. DAUSSET, Organi--sateur, Janvier 1978.

DEGOS L., DAUSSET J., 1975. Comparison of genetic (factorial cor--respondance analysis) and geographical distances. Tissue antigens, 5, 464-466.

DEMANT P., 1966. Polymorphism of leucocyte antigens in rabbit. Proc-Xth European Congress on Animal Blood Groups and Biochemical polymorphism. 481-484. Paris 1966, INRA-Paris.

DEMANT P., 1973. H2 genes complex and its role in alloimmmune re--actions.
Transplant. Rev., 15, 164-200.

DEMANT P., CAPKOVA J., HINZOVA E., VORACOVA B., 1973. The role of the histocompatibility. 2- Linked Ss-Slp re--gion in the control of mouse complement.
Proc. Nat. Acad. Sci. (USA), 70, 863.

DEMANT P., NEAUPORT-SAUTES C., 1978. The H-2L locus and the system of H2 specificities.
Immunogenetics., 7, 295-311.

DE WECK A. L., BLAK L., SATO W., FREY J. R. 1971. Determina--tion of histocompatibility antigens by leucocyte typing in outbred guinea pigs and effect of matching on skin graft survival.
Transplant. Proceed., 3, 192-194.

DE WECK A. L., GECZY A. F., SATO W., MUELLER E., 1976. Guinea pig histocompatibility antigens. 1 - Serological and genetic characterisation of GPLA antigens.
Transplant. , 21, 225-241.

DUBIEZ R., 1967. Contribution à l'étude de la formule leuc ocytaire et de la numération globulaire chez le porc.
Thèse Doct. Vét. Lyon 1967.

DU PASQUIER L., CHARDONNENS X., MIGGIANO V. C. A., 1975 Major histocompatibility complex in the toad Xenopus Laevis (Daudin).
Immunogenetics, 1, 482-485.

DUPONT B., STAUB-NEILSEN L., SVEJGAARD A., 1971. Relative importance of four LA loci in determining mixed lymphocy--te reaction.
Lancet., 2, 1336.

DYMINSKI J. W., SMITH R. T., 1975.
Evidence for a B-cell like helper function in mixed lympho--cyte reaction between immunocompetent thymus cells.
J. Exp. Med., 141, 360-373.

EIJSVOOGEL V. P., VAN ROOD J. J., TOIT E. D., SCHELLENKENS P. T. A., 1972. Position of a locus determining mixed lym--phocyte reaction distinct from the known HLA loci.
Europ. J. Immunol., 2, 413.

EISEN S. A., et al. 1972. Isolation of pure human peripheral blood T-lymphocytes using nylon wool columns.
Immunol. Communications., 1, 6, 571-577.

ELKINS W. L., PALM J., 1966. Identification of a single strong his--tocompatibility locus in the rat by normal spleen-cell transfer.
Ann. N. Y. Acad. Sci., 129, 573-580.

ERB P., FELDMANN M., 1975. The role of macrophages in the gene--ration of T helper cells. II-The genetic control of the ma--crophage- T-cell interaction for helper induction with so--luble antigens.
J. Exp. Med., 142, 460.

FATHMANN C. G., COLLAND D., DAVIES S., NABHOLZ M., 1977. In vitro secondary MLR-I. Kinetics of proliferation and specificity of in vitro primed cells. J. Immunol., 118, 1232.

FEINGOLD N., 1966. Utilisation du coefficient de corrélation dans l'étude des groupes leucocytaires. Rev. Franç. Etudes Clin. et Biol., XI, 1036-1039.

FELLOUS M., 1978. Le groupe de liaison génétique du complexe HLA. In: Cours supérieur d'histocompatibilité HLA-1978. J. DAUSSET (Editeur).

FELLOUS M., BILLARDON C., DAUSSET J., FREZAL J., 1971. Linkage probable entre les locus HLA et P. C.R. Acad. Sci. Paris. t272-Série D.1356.

FELLOUS M., et al., 1977. The expression and relation of HLA, microglobulin and receptor for marmoset red blood cells on man/mouse and man/chinese hamster hybrid cells. Europ. J. Immunol., 7, 22.

FORD C. H. J., 1975. Genetic studies of sheep leucocyte antigens. J. Immunogenetics, 2, 31-40.

FORMAN J., MOLLER G., 1974. Generation of cytotoxic lymphocytes in mixed lymphocyte reactions. II-Importance of private and public H2 alloantigens on the expression of cytotoxicity. Immunogenetics, 1, 211-225.

FRADELIZI D., 1978. Physiologie de la réponse allogénique chez l'hom--me. In/Le complexe principal d'histocompatibilité de l'homme (HLA). Cours supérieur d'histocompatibilité 1978. J. DAUSSET . Organisateur.

FRADELIZI D., DAUSSET J., 1975. Mixed lymphocyte reactivity of human lymphocytes primed in vitro. I-Secondary response to allogenic lymphocytes. Europ. J. Immunol., 5, 295-301.

FRADELIZI D., MAWAS C., CHARMOT D., SASPORTES M., 1975. In vitro primed cells: a probe for LD typing? In: Histocom--patibility testing 1975. KISSMEYER-NIELSEN. Ed - MUNKSGAARD, COPENHAGEN.

FRADELIZI D., CHARMOT D., MAWAS C., SASPORTES M., 1976. Secondary response of in vitro primed human lymphocytes to allogenic cells. III-Specificity for the mixed lymphocyte reaction stimulating determinants of the second prolifera--tive response. Immunogenetics, 3, 29-49.

FRADELIZI D., NUNEZ-ROLDAN A., SASPORTES M., 1978. Human Ia-Like DRw lymphocyte antigens stimulating activity in primary mixed lymphocyte reaction. Eur. J. Immunol., 8, (2), 88-93.

FRANCKE W., PELLEGRINO M. A., 1977. Assignment of the major histocompatibility complex to a region of the short arm of human chromosome 6. Proc. Nat. Acad. Sci., 74, 1147.

FRENCH V. I. , 1975. Histocompatibility of chickens homozygous at the B-locus erythrocyte antigen. I- Effect of B-locus matching on skin graft survival.
J. Immunog. , 2, 171-178.

FU S. M. , KUNKEL H. G. , BRUSHMAN H. P. , ALLEN F. H. , FOTI--NO, 1974. Evidence for linkage between HLA histocompa--tibility genes and those involved in the synthesis of the se--cond component of the complement.
J. Exp. Med. , 140 , 1108.

GASSER D. L. , SILVERS W. K. ,1974. The genetic determinants of immunological responsiveness.
Advanc. Immunol. , 18, 1-68.

GATTI R. A. , NEUWISSEN H. J. , TERASAKI P. I. , GOOD R. A. ,1971. Recombination within the HLA locus.
Tissue antigens, 1, 239.

GORER P. A., 1936. The detection of antigenic differences in mouse erythrocyte by employement of immune sera.
Brit. J. Exp. Path. ,17, 42-50.

GORER P. A. , 1937. The genetic and antigenis basis of tumour trans--plantation.
J. Path. Bact. ,44, 691-697.

GORER P. A. , LYMAN S. , SNELL G. , 1948. Studies on the genetic and antigenic basis of tumour transplantation - linkage betw een a histocompatibility gene and "fused" in mice.
Proc. Roy. Soc. , -B-, 135, 499-505.

GORER P. A. , O'GORMAN P. , 1956. The cytotoxic activity of isoan--tibodies in mice.
Transplant. Bull. ,3, 142-143.

GOTZE D. , REISFELD R. A. , KLEIN J. , 1973. Serologic evidence for antigens controlled by the Ir region in mice.
J. Exp. Med. ,138, 1003-1008.

GUNTHER E. , BALCAROVA J. , HALA K. , RUDE E. , HRABA T. , 1974. Evidence for an association between immune res--ponsiveness of chicken to (T, G)-A-L and the major his--tocompatibility system.
Eur. J. Immunol. , 4, 548-553.

HALA K. , VILHELMOVA M. , HARTMANOVA J. , 1976. Probable crossing-over in the B blood group system of th chicken.
Immunogenetics, 3, 97-104.

HAMMERLING G. L. ET AL. , 1974. B lymphocyte alloantigens con--trolled by the I-region of the major histocompatibility complex in mice.
Immunogenetics, 1, 68-81.

HAN T. , DADEY B. , 1976. T and B lymphocytes.
Immunology, 31, 643-648.

HANAU A. , 1889. Erfolgreicheexperimentelle Uebertragung von Carcinom.
FORTSCH. Med. , 7, 321-339.

HANSEN T. H., SHIN H., SHREFFLER D. C., 1975. Evidence for the involvement of the Ss protein of the mouse in the hemolytic complement system.
J. Exp. Med., 141, 1216.

HAUPTFELD V., HAUPTFELD M., KLEIN J., 1973. Serological identification of an I-region product.
Science, 181, 167-169.

HESLOP B. F., 1968. Histocompatibility antigens in the rat: The AS2 strain in relation to the AS, BS and HS strains.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 46, 479-491.

HORS J., PREUD'HOMME J. L., TOULZE-ZAPATERIA M. T., GUILLET-BIGOT J., ROY J. P., DAUSSET J., 1973. A simplified method for freezing lymphocytes in nitrogen vapors.
Transplant., 15, 417-419.

HRUBAN V., SIMON M., HRADECKY J., 1974. Histocompatibility studies in pigs from outbred and semi-inbred families.
Anim. Bloods Grps Biochem. Genet., 5, 171-176.

HRUBAN V., SIMON M., HRADECKY J., JILEK F., 1976. Linkage of the pig main histocompatibility complex and the blood group system.
Tissue antigens, 7, 267-271.

JENSEN C. O., 1903. Experimentelle Untersuchungen über Krebs bei Maüsen.
Zbl. Bakt. 34./28-34 et 122-143.

JONGSMA A. et al., 1973. Assigment of PGm_1^3 to chromosome C_6 and regional mapping of the PGD, PGm_1 and Pep. C genes on chromosome A_1.
Human Genet., 20, 195-202.

KARAKOZ J., et al., 1974. Genetic differenciation of tuberculin hyper--sensivity in chicken inbred lines.
Eur. J. Immunol., 4, 545-548.

KASAKURA S., THOMAS E. D., FERREBEE J. W., 1964. Leucocytoto--xic isoantibodies in the dog.
Transplant., 2, 274-280.

KATZ D. H., HAMAOKA T., DORF M. E., MAURER P. H., BENACE--RRAF B., 1973. Cell-interactions between histocompatible T and B lymphocytes. IV-Involvement of the immune respon--se (Ir) gene in the control of lymphocyte.
J. Exp. Med., 138, 734.

KISSMEYER-NIELSEN F., et al., 1971. Human transplantation antigens The HLA system.
Proc. 12th Congr. Int. Soc. Blood. Transf., Moscou. 1969
HAEMAT., 38, 276-281.

KLEIN J., PARK J. M., 1973. Graft versus host reaction across dif--ferent regions of the H-2 complex of the mouse.
J. Exp. Med., 137, 1213-1225.

KOCH C., HENRIKSEN K., JUHL F., MULLER-BERAT N., 1973. Bone-marrow transplantation from an HLA non-identical but mixed-lymphocyte-culture identical donor. Lancet., 1, 1146.

KOCH C., SIMONSEN M., 1977. Immune response in chickens. Anti--body response to TGAL and GT. Immunogenetics, 5(1-2), 161-170.

KRISTENSEN T., GRUNNET N., 1975. Cell mediated lympholysis in man. Evidence of a separate CML locus within the major Histocompatibility complex and an approach to CML typing. In: Histocompatibility testing 1975. pp 835-844. MUNKSGAARD, COPENHAGEN.

KUNZ H. W., GILL T. J., 1974. Genetic studies in inbred rats. I-Two new histocompatibility alleles. J. Immunog., 1, 413-420.

LACHMANP. J., GRENNAN D., MARTIN A., 1975. Identification of Ss protein as murine C_4. Nature, 258, 242-243.

LAMM L. U., et al., 1974. Assigment of the major histocompatibility complex to chromosome n. 6 in a family with pericentric inversion. Hum. Hered., 24, 273.

LAZARY S. et al., 1978a. Leukocyte antigens (ELA) in the antibody production to tetanus toxoid and toxin in the horse. 4th Int. Conf. Equine Inf. Disease, Lyon, Ed. Bryans T. J. And Gerber H.; Veterinary Publ. Inc. - Princeton - New-Jersey. pp 237-242.

LAZARY S. et al. 1978b. Determination of leukocyte histocompatibi--lity antigens in horses by serological techniques. Ref. idem 1978a - pp 221-227.

LAZARY S. et al., 1975. Characterization of lymphocyte alloantigens permitting identification of horse families (preliminary results). Proc. First Int. Symposium on Equine Hematology . 28-30. KITCHEN H. α KREUBIE J. D. Ed.

LANE J. Y., LING N. R., 1973. Rat thymocytes. The allogenic res--ponse and syngeneic effects in mixed culture with tissue cells from various organs. Transplant., 16, 602-609.

LEBRUN A., SASPORTES M., DAUSSET J., 1971. Rôle prépondé--rant du deuxième locus HLA ou d'un gène lié dans la ré--action de culture mixte lymphocytaire. C. R. Acad. Sci. Paris, 273, 2130.

LILLY F., 1971. The influence of the H-2 type on virus leukemogene--sis in mice. Transpl. Proceed., 3, 1239-1242.

LOEB L., 1901. On transplantation of tumors. J. Med. Res., 6, 28-38.

LOEB L., 1945. The biological basis of individuality. Springfield. Ch. C. Thomas.

LOHRMANN H. P., NOVIKOVS L.D., GRAW R. G., 1974. Stimulato--ry capacity of human T and B lymphocytes in mixed leu--cocyte culture. Nature, 250, 144.

LUNNEY J. K., SACHS D. H., 1978. Transplantation in miniature swine. IV-Chemical characterization of MSLA and Ia-like antigens. J. Immunol., 120, 607-612.

LUNNEY J. K., SACHS D. H., 1979. Transplantation in miniature swine. V-Characterization of Ia antigens. J. Immunol., 122, 623-627.

MATEJ H., 1970. Studies on histocompatibility in skin allotransplan--tation in rabbits. Arch. Immunol. Ther. Exp., 18, 315-326.

MAWAS C., CHARMOT D., SASPORTES M., 1975. Secondary respon--se of in vitro primed lymphocytes to allogenic cells. I-Role of HLA antigens and mixed lymphocyte reaction stimulating determinants in secondary in vitro prolifera--tion responses. Immunogenetics, 2, 449-463.

MAC DEWITT H. O., 1968. Genetic control of the antibody response. II-Qualitative and quantitative characterization of the an--tibody response to (T, G)-A-L in CBA and C57 mice. J. Immunol., 100, 485.

MAC DEWITT H. O., TYAN M. L., 1968. Genetic control of the anti--body response in inbred mice. Transfer of response by spleen cells and linkage to the H-2 locus. J. Exp. Med., 128, 1-11.

MAC DEWITT H. O. et al., 1972. Genetic control of immune response. Mapping of the Ir-1 locus. J. Exp. Med., 135, 1259-1278.

MAC KENZIE I. F., CLARKE A., PARISH C. R., 1977. Ia antigenic specificities are oligosaccharide in nature: hapten-inhibi--tion studies . J. Exp. Med., 145, 1039-1053.

MEDAWAR P. B., 1944. Behaviour and fate of skin autografts and homografts in rabbits. J. Anat., 78, 176-199

MEMPEL W., ALBERT E., BURGER A., 1972. Further evidence for a separate MLC locus. Tissue Antigens, 2, 250.

MEO T. et al., 1973. A bipartite interpretation and tentative mapping of H-2 associated MLR determinants in the mouse. Transpl. Proceed., 5, 1339-1350.

MIGGIANO V. C., BIRGEN J., PINK J. R. L., 1974. The mixed leu-
-cocyte reaction in chickens. Evidence for control by the major histocompatibility complex.
Eur. J. Immunol., 4, 397-401.

MILLOT P., 1971. Détermination d'antigènes lymphocytaires chez les ovins.
C. R. Acad. Sci. Paris, 273, 2028-2030.

MILLOT P., 1978. Existence chez le mouton (Ovis aries) d'un com-
-plexe majeur d'histocompatibilité et de deux loci mineurs d'antigènes lymphocytaires.
Thèse - Université de Paris VI.

MOESCHLIN S., WAGNER R., 1952. Agranulocytosis due to the oc-
-curence of leucocyte agglutinins (pyramidon and cold ag-
-glutinins).
Acta. Haematol., 8, 29-41.

MULLEN Y., HILDEMANN W. H., 1971. Kidney transplantation ge-
-netics and enhancement in rats.
Transplant. Proceed., 3, 669-672.

NABHOLZ M., et al., 1974. Cell mediated lysis "in vitro": genetic control of killer cell production and target specificities in the mouse.
Eur. J. Immunol., 4, 378-387.

NIETHAMMER D., et al., 1976. Bone marrow transplantation for severe combined immuno-deficiency with the HLA-A in-
-compatible but MLC identical mother as donor.
Transplant. Proceed., 8, 623.

NUNEZ-ROLDAN A., SASPORTES M., FRADELIZI D., 1978. Analysis of products involved in primary and secondary allogenic proliferation in man. II-Detection of products dif-
-ferent from Ia-like, DRw antigens, activating secondary allogenic proliferation in man.
Immunogenetics, 6, (1), 43-54.

OPPLTOVA L., DEMANT P., 1973. Genetic determinants for the graft versus-host-reaction in the H-2 complex.
Transpl. Proceed., 5, 1367-1371.

ORIOL R., et al., 1977. Rôle des sytèmes sécréteurs Se-se et Lewis (le-le) dans le rejet des greffes rénales.
C. R. Acad. Sci. Paris., 285, 1083.

OSTRAND-ROSENBERG S., STORMONT C., 1974. Bovine leucocyte antigens.
Anim. Blood Group Biochem. Genet., 5, 231.

OTT J., et al., 1976. Estimating distance from the centromere by means of benign ovarian teratomas in man.
Ann. Human. Genet., 40, 191.

PARISH C. R., 1975. Separation and functionnal analysis of sub-popula-
-tions of lymphocytes bearing complement and Fc receptors.
Transpl. Rev., 25, 98-116.

PALM J., WILSON D. B., 1973. The Ag-B locus of rats: a major histocompatibility complex.
Transplant. Proceed., 5, 1573-1577.

PAYNE R., ROLFS M. R., 1958. Fetomaternal leucocyte incompatibi--lity.
J. Clin. Invest., 37, 1756-1763.

PAYNE R., et al., 1964. A new leucocyte iso-antigen system in man.
Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 29, 285-295.

PAZDERKA, et al., 1975. Review: The major histocompatibility com--plex of the chicken.
Immunogenetics, 2, 101-130.

PECK A. B., WIGZEIL H., JANEWAY J. R., ANDERSSONL. C., 1977. Environmental and genetic control of T-cell activation in vitro: a study using isolated alloantigen-activated T-cell clones.
Transplant. Rev., 35, 146.

PINK J. R. L., DROEGE W., HALA K., MIGGIANO V. C., ZIEGLER A., 1977. A three-locus model for the chicken major histocom--patibility complex.
Immunogenetics, 5, 203-216.

PLATE J. D. H., MAC KENZIE J. F. C., 1973. B cell stimulation of al--loantigenic T cell proliferation in mixed lymphocyte cultu--res.
Nature N. B., 245, 247.

RITTNER C., et al., 1975. Linkage between HLA and genes controlling the synthesis of the fourth component of complement.
Histocompatibility Testing, 1975, MUNKSGAARD, Copen--hagen, p. 945.

ROGENTINE G. N., VALL L., ELLIS E. B., DARROW C. C. I. I., 1971. Rhesus lymphocyte alloantigens. I-Identification of a major alloantigen system.
Transplantation, 12, 267-270.

ROSENTHAL A. S., SHEVACH E. M., 1973. The function of macropha--ges in antigen recognition by guinea pig T lymphocytes. I-Requirement for histocompatibility macrophages and lym--phocytes.
J. Exp. Med., 138, 1194.

RYCHLIKOVA M., DEMANT P., IVANYI P., 1970. Further studies on mixed lymphocyte reaction in H-2 incompatibility.
Proc. Symp. Immunogenetics of the H-2 system. Prague 1970. P. 178-181.

RYDER L. P., ANDERSEN E., SVEJGAARD A., 1978. An HLA map of Europe.
Hum. Hered., 28, (3), 171-200.

SACHS D. H., CONE J. L., 1973. A mouse "B" alloantigen determined by a gene (1) linked to the major histocompatibility complex.
J. Exp. Med., 138, 1289-1304.

SACHS D. H., LEIGHT G., CONE J., SCHWARZ S., STUART L., ROSENBERG S., 1976. Transplantation in miniature swine. Fixation of the major histocompatibility complex. Transplantation, 22(6), 559-567.

SANDBERG L., et al., 1970. Evidence of a third sublocus within the HLA chromosomal region. P. I. TERASAKI, Ed. Histocompatibility Testing, 1970., MUNKSGAARD, Copenhagen. p. 165-169.

SANDERSON A. R., DAVIES D. A. L., 1974. Genetic control of cell surface antigens. Progr. Immunol., 2, 364-367.

SASPORTES M., 1978. Culture mixte lymphocytaire et système HLA-D. Cours supérieur d'histocompatibilité. J. DAUSSET, organisateur, Janvier 1978.

SASPORTES M., LEBRUN A., RAPAPORT F. T., DAUSSET J., 1972. Studies of skin allograft and mixed lymphocyte culture in HLA genotyped families. Transpl. Proc., 4, 209.

SASPORTES M., MAWAS C., BERNARD A., CHRISTEN Y., 1973. MLR in families with one HLA haplotype shared by parents: recombination between SD2 and LD3, possible evidence for one LD3 locus. Transplant. Proc., 5, 1517.

SASPORTES M., et al., 1976. Détection par trois techniques d'immunologie cellulaire des déterminants antigèniques du système Ly-Li exprimés sur les lymphocytes B humains. C. R. Acad. Sci. Paris, 283, 663.

SASPORTES M., FRADELIZI D., NUNEZ-ROLDAN A., WOLLMAN E., GIANNOPOULOS Z., DAUSSET J., 1978. Analysis of stimulating products involved in primary and secondary allogenic proliferation in man. I-Preponderant role of the Ia-like DR(Ly-Li) antigens as stimulating products in secondary allogenic response in man. Immunogenetics, 6(1), 29-42.

SCHALM O. W., 1965. Veterinary Hematology. Philadelphia Lea and Febiger.

SCHIERMAN L. W., NORDSKOG A. W., 1961. Relationship of blood type to histocompatibility in chickens. Science, 134, 1008.

SCHIERMAN L. W., NORDSKOG A. W., 1962. Relationship of erythrocyte to leucocyte antigens in chickens. Science, 137, 620.

SCHIERMAN L. W., MAC BRIDE R. A., 1969. Evidence for a mutational event at the B blood group-histocompatibility locus in chickens. Transplantation, 8, 515-516.

SCHREK R., DONNELY W. J., 1961. Differences between lymphocytes leukemic and non leukemik patients with respect to mor--phologic features, motility and sensitivity to guinea pig serum.
Blood, 28, 561-577.

SCHWARTZ D., 1975. (1ère ed. 1963). Methodes statistiques à l'usa--ge des médecins et des biologistes.
Flammarion Médecine-Sciences. pp. 55-92.

SHEEHY M. J., SONDEL P. M., BACH M. L., WANK R., BACH F. H., 1975. HLA-D (LD) typing: a rapid assay with primed lym--phocytes.
Science, 188, 1308-1310.

SHEVACH E., GREEN I., FRANK M. M., 1976. Linkage of C4 defi--ciency to the major histocompatibility locus in the guinea pig.
J. Immunol., 116, 1750.

SHEVACH E., SCHWARTZ B. D., 1977. Overview of the structure and function of the major histocompatibility complex of the gui--nea pig.
Fed. Proceed., 36, 2260-2263.

SHREFFLER D. C., OWEN R. D., 1963. A serologically detected vari--ant in mouse serum: inheritance and association with the histocompatibility-2 locus.
Genetics, 48, 9-25.

SHULMAN N. R., MARDER V. J., HILLER M. C., COLLIER E. M., 1964. Platelet and leucocyte iso-antigens and their antibo--dies: serologic, physiologic and clinical studies.
Progr. Hemat., 4, 222-304.

SILVER J., CECKA J. M., MAC MILLAN M., HOOD L., 1976. Chemi--cal characterization of products of the H-2 complex.
Cold Spring Harbor. Symp. Quant. Biol., 6(1), 369.

SNELL G. D., STIMPFLING J. H., 1966. Genetics of tissue transplan--tation.
Biology of the laboratory mouse(ed. E. L. GREEN). N-Y. MAC GRAW-HILL Co., 1966.

SNELL G. D., DAUSSET J., NATHENSON S., 1976. Histocompatibility.
Academic press - New-York.

SOLLIDAY S., BACH F. H., 1970. Cytotoxicity; Specificity after in vi--tro sensitization.
Science, 170, 1406-1409.

SONDEL P. M., et al., 1975. Immunologic functions of isolated human lymphocyte subpopulations. III-Specific allogeneic lympho--lysis.
J. Immunol., 114, 982.

SPOONER R. L., GROSCLAUDE F., LEVEZIEL H., OLIVIER R. A., VAIMAN M., 1980. An attempt to define a major histocom--patibility complex in cattle (BOLA).
Soumis pour publication.

STARK O. , KREN V. , 1967. Erythrocyte and transplantation antigens in inbred strains of rats. VI-The histocompatibility-1 system and its alleles.
Folia Biol. (Praha), 13, 356-360.

TADA T. , TANIGUCHI M. , 1976. Characterization of the antigen spe--cific suppressive T cell factor with special reference to the expression of I region genes;in "the role of products of the histocompatibility gene complex in immune responses." KATZ D. H. , BENACERRAF B. Ed. , Academic Press. New-York, 1976.

TADA T. , TANIGUCHI M. , DAVID C. S. , 1976. Properties of the anti--gen specific suppressive T cell factor in the regulation of antibody response in the mouse. IV-Special subregion assi--gment of the gene(s) that codes for the suppressive T cell factor in the H-2 histocompatibility complex.
J. Exp. Med. , 144, 713.

TANIGUCHI M. , TADA T. , TOKUHISA T. , 1976. Properties of the an--tigen specific suppressive T cell factor in the regulation of antibody response of the mouse. III-Dual gene control of the cell mediated suppression of the antibody response.
J. Exp. Med. , 144, 20.

TAUSSIG M. J. , 1974. T cell factor which can remplace T cells in vivo.
Nature, 248, 234.

TAUSSIG M. J. , MUNRO A. J. , 1975. Two genes in the major histocom--patibility complex control immune response.
Nature, 256, 103.

TEMPLETON J. W. , MOSELEY H. S. , FLETCHER W. S. , 1973. Predic--tion of skin graft survival by MLC testing.
Tissue Antigens, 3, 168-169.

TERASAKI P. I. , MAC CLELLAND J. D. , 1964. Microdroplet assay of human serum cytotoxins.
Nature, 204, 998-1000.

THORSBY E. , HIRSCHBERG H. , HELGESEN A. , 1973. A second locus determining human MLC response; separate lymphocyte po--pulations recognize the products of each different MLC lo--cus alleles in allogenic combinations.
Transpl. Prcc. , 5, 1523.

TISSOT R. G. , COHEN C. , 1972. Histocompatibility in the rabbit. Iden--tification of the major locus.
Tissue Antigens, 2, 267-279.

TISSOT R. G. , COHEN C. , 1974. Histocompatibility in the rabbit. Lin--kage between RLA, MLC and the He blood group locus.
Transplantation, 18, 142-149.

UNANUE E. R. , DORF M. E. , DAVID C. S. , BENACERRAF B. , 1974. The presence of Ia antigens on B cells in molecules distinct from Ig and H-2K and H-2D.
Proc. Nat. Acad. Sci. , 12, 5014-5016.

USINGER W. R. , CURIE-COHEN M. , STONE W. H. , 1977. Lymphocyte--defined loci in cattle.
Science, 196, 1017.

VAIMAN M. , 1974. Le complexe d'histocompatibilité majeur SLA du porc. Mise en évidence. Etude. Rôle dans les allogreffes.
Rapport C. E. A. -R. 4581. Thèse Paris VII.

VAIMAN M. , 1978. Le complexe majeur d'histocompatibilité chez les animaux.
Cours Supérieur d'histocompatibilité. Paris, J. DAUSSET Organisateur.

VAIMAN M. , RENARD C. , LAFAGE P. , AMETEAU J. , NIZZA P. , 1970. Evidence for a histocompatibility system in swine(SLA).
Transplantation, 10, 155-164.

VAIMAN M. , et al. , 1975. Alloantigènes sous la dépendance de la ré--gion SLA contrôlant la réaction lymphocytaire mixte chez le porc.
C. R. Acad. Sci. Paris. t280, Série 2809.

VAIMAN M. , HAUPTMANN G. , MAYER S. , 1977. Influence of the ma--jor histocompatibility complex in the pig (SLA) on serum hemolytic complement levels.
J. Immunogenetics, 5(1), 59-65.

VAIMAN M. , METZGER J. J. , RENARD C. , VILA J. P. , 1979. Immune response gene(s) controlling the humoral anti-lysozyme (Ir-Lys) response, linked to the major histocompatibility complex (SLA) in the pig.
Immunogenetics(accepté pour publication)

VAN DAM R. H. , et al. , 1976. Histocompatibility in ruminants. The production and evaluation of allo-antibodies for GPA typing in goats.
J. Immunog. , 3, 237-244.

VAN ROOD J. J. , et al. , 1958. Leucocyte antibodies in sera from preg--nant women.
Nature (Lond.), 181, 1735-1736.

VAN ROOD J. J. , VAN LEUWEN A. , 1963. Leucocyte grouping. A met--thod and its applications.
J. Clin. Invest. , 42, 1382-1390.

VAN ROOD J. J. , VAN LEUWEN A. , BALNER H. , 1972. HLA and ChLA : similirarites and differences.
Transpl. Proc. , 4, 55-62;

VETTO R. M. , BURGER D. R. , 1972. Endothelial cell stimulation of allogeneic lymphocytes.
Transplantation, 14, 652-654.

VITETTA E. S. , KLEIN J. , UHR J. W. , 1974. Isolation and partial cha--racterization of Ia antigens from murine lymphoïd cells.
Immunogenetics, 1, 82-90.

VITETTA E. S. , et al. , 1977. Homology of (murine) H-2 and (human) HLA with a chicken histocompatibility antigen.
Nature, 270, 5637, 535-536.

VRIESENDORP H. M. , et al. , 1976. Joint report of the second interna--tional workshop on canine immunogenetics.
Transpl.Proceed. , 8, 289-314.

VRIESENDORP H. M. , BIJNEN A. B. , WESTBROEK D. L. , VAN BEKKUM D. W. , 1977. Genetics and transplantation immunology of the DLA complex.
Transpl. Proceed. , 9, 293-296.

WILLIAMS R. M. , MOORE M. J. , 1977. Genetic recombination between serologically defined antigens and mixed lymphocyte reacti--vity, in the rat major histocompatibility complex.
Transpl. Proceed. , 9, 563-565.

WINKLER M. A. , SANDERS B. G , 1977. Chemical and immunologic characterization of a beta$_2$-microglobulin-like protein iso--lated from chicken sera.
Immunochemistry, 14(8), 615-619.

WYSOCKI L. J. , SATO V. L. , 1978. "Panning" for lymphocytes: a me--thod for cell selection.
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. - Vol75. No6. pp. 2844-2848.
June 1978. Cell Biology.

YUNIS E. J. , AMOS D. B. , 1971. Three closely linked genetic systems relevant to transplantation.
Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. , 68, 3031.

ZIEGLER A. , PINK J. R. L. , 1975. Characterization of major histocom--patibility (B) antigens of the chicken.
Transplantation, 20, 523-527.

ZIEGLER A. , PINK J. R. L. , 1976. Chemical properties of two antigens controlled by the major histocompatibility complex of the chicken.
J. Biol. Chem. , 251, 5391-5396.

Vu : Le PRofesseur de l'Ecole Vétérinaire

rapporteur

Vu : Le Président de la Thèse

Université Paul Sabatier
U.E.R. des SCIENCES MÉDICALES A
SERVICE D'[illegible]
Professeur Jean DUCOS
Centre Hospitalier Universitaire
de Purpan
F - 31 . TOULOUSE

Professeur DUCOS

Vu : Le Directeur de l'Ecole

Vétérinaire

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE - DIRECTION -

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Toulouse, le 21 JAN. 1981

P/ LE PRESIDNET DE L'UNIVERSITE

PAUL SABATIER, et par délégation

LE VICE-PRESIDENT,

UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER - TOULOUSE

Professeur L. LARENG

ERRATA - THESE N° 28 - 1981

Page 71, Ligne 19 : "on rince" et non "on lace"

Lignes 20 et 22 : "NaCl à 9‰ " et non "NaCl à 9%"

Page 121, Sérum 1963 : "Haplotype de l'immuniseur = LD 1" et non "LD 2"

Page 133, Tableau, Spécificité Ia du C1)
Ligne 4 du paragraphe C1) "Ia 4" et non "Ia 12"
Page 148, Lignes 28 et 31)

Page 133, Tableau, Spécificité Ia du C1
Ligne 5 du paragraphe C1 "Ia 2" et non "Ia 10"

Page 133, Tableau, Spécificité Ia du C2 "Ia 1" et non "Ia 18"

Page 133, Ligne 2 du paragraphe C2 "Ia 1" et non "Ia 10"

Page 23, Ligne 3 : "prolifération" et non "proligération"